

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica



TESIS DOCTORAL

Utilidad de la procalcitonina, pancreatic stone protein (PSP) y fracción soluble de CD25 (sCD25) como biomarcadores para el diagnóstico de infección y sepsis

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Ana María Hernando Holgado

Directoras

Ana María Fernández Carballido

María Dolores Albaladejo Otón

Madrid, 2018



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

“Utilidad de la Procalcitonina, Pancreatic Stone Protein (PSP) y Fracción soluble de CD25 (sCD25) como biomarcadores para el diagnóstico de infección y sepsis.”

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR:

ANA M. HERNANDO HOLGADO

Bajo la dirección de las doctoras:

Dra. Ana María Fernández Carballido

Dra. María Dolores Albaladejo Otón

Madrid, junio de 2017



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

Memoria presentada por Ana M. Hernando Holgado para optar al grado de
Doctor en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid.

Fdo. Ana M. Hernando Holgado

Vº Bº

Las directoras de la Tesis Doctoral

Fdo.: Ana M^a Fernández Carballido
Prof. Titular del Dpto. de Farmacia y
Tecnología Farmacéutica. Facultad
de Farmacia. UCM.

Fdo.: M^a Dolores Albaladejo Otón
Jefa de Servicio de Análisis Clínicos
del Hospital Universitario Santa
Lucía de Cartagena.

Agradecimientos:

“Cuando el objetivo te parezca difícil, no cambies de objetivo, busca un nuevo camino para llegar a él.” Confucio.

En primer lugar, querría agradecer a mi directora de tesis, María Dolores, por haber sido de gran apoyo en esta aventura y durante los cuatro años de residencia.

Agradecer también a Ana, mi otra directora de tesis, por su paciencia y dedicación, porque me ha allanado el camino en todo lo que ha podido.

A mis compañeros de residencia, por haberme hecho tan fácil esos cuatro años, y en especial al futuro Dr. Pedregosa, por su paciencia incalculable y su ayuda con los entresijos de Word; sin él, a lo mejor esta tesis estaría escrita a mano.

Al resto de compañeros del Hospital Universitario Santa Lucía, por haberme recibido tan bien durante y después de la residencia, todas las veces que he tenido que acercarme al Servicio de Análisis Clínicos.

A mi familia y amigos que desde la distancia siempre han estado animándome en este proyecto que ahora termina.

A Alex, por haber hecho que este trabajo haya sido más ameno estos últimos meses.

Y por supuesto dar las gracias a Luis, mi tutor de residencia, un ejemplo de dedicación y entrega a la investigación. Sin él este trabajo no se hubiera podido llevar a cabo. Gracias por tu paciencia y por todas las tardes de ayuda desinteresada; sabes que te aprecio mucho.

Y no me podía olvidar de mis padres; gracias por haberme apoyado en cada decisión de mi vida, fácil y difícil. Parecía que esto no iba a terminar...pues aquí está, y a vosotros os la dedico.

*“El genio se hace con un
1% de talento y un 99% de trabajo”.*
Albert Einstein.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
RELACIÓN DE ABREVIATURAS.....	5
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	11
RESUMEN.....	13
SUMMARY	17
1. INTRODUCCIÓN	21
1.1 DEFINICIÓN DE INFECCIÓN- SEPSIS	23
1.2 FISIOPATOLOGÍA DE LA SEPSIS.....	32
1.3 RESEÑA HISTÓRICA	38
1.4 SITUACIÓN ACTUAL.....	40
1.5 BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN-SEPSIS	44
1.5.1 Definición de biomarcador.....	44
1.5.2 Biomarcadores	46
1.5.2.1 Biomarcadores clásicos	47
1.5.2.2 Biomarcadores emergentes	54
1.5.2.3. Biomarcadores emergentes objeto de este estudio	58
2. HIPÓTESIS	61
2.2 HIPÓTESIS.....	63

3. OBJETIVOS	65
4. MATERIALES Y MÉTODOS	69
4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	71
4.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO	71
4.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO	71
4.4 VARIABLES DE ESTUDIO	72
4.5 CLASIFICACIÓN DE PACIENTES	73
4.6 MAGNITUDES BIOQUÍMICAS	74
4.6.1. Extracción de las muestras de sangre	74
4.6.2. Métodos analíticos.....	74
4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	79
4.8 FINANCIACIÓN.....	80
4.9 COMITÉ ÉTICO	80
5. RESULTADOS	81
5.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	83
5.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN CON DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN	84
5.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LA POBLACIÓN CON DIAGNÓSTICO FINAL DE INFECCIÓN	84
5.4 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN.....	85
5.5 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS.....	90
5.6 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA SEVERIDAD DE LA SEPSIS.	93
5.7 ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL FOCO DE INFECCIÓN EN LAS CONCENTRACIONES DE BIOMARCADORES EN PACIENTES CON INFECCIÓN ...	96
5.8 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE BIOMARCADORES PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIEMIA. INFLUENCIA DE LA ETIOLOGÍA EN LOS NIVELES DE LOS BIOMARCADORES	99

5.9 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA MORTALIDAD HOSPITALARIA	103
6. DISCUSIÓN	111
6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN	113
6.2 RENDIMIENTO DE LOS BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN Y SEPSIS	115
6.3 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA SEVERIDAD DE LA SEPSIS	117
6.4 ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL FOCO DE INFECCIÓN EN LAS CONCENTRACIONES DE BIOMARCADORES EN PACIENTES CON INFECCIÓN .	119
6.5 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE BIOMARCADORES PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIEMIA. INFLUENCIA DE LA ETIOLOGÍA EN LOS NIVELES DE LOS BIOMARCADORES	119
6.6 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA MORTALIDAD HOSPITALARIA	121
6.7 LIMITACIONES DEL ESTUDIO	124
7. CONCLUSIONES	125
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
9. ANEXOS	145

RELACIÓN DE ABREVIATURAS

ACCP	<i>American College of Chest Physicians</i>
APACHE	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i>
ATB	Antibiótico
ATS	<i>American Thoracic Society</i>
AUC	<i>Area Under Curve</i>
CGRP	<i>Calcitonin gene related peptide</i>
CV	Coeficiente de variación
DM	Diabetes Mellitus
ECLIA	Ensayo de electroquimioluminiscencia
EGDT	<i>Early goal-directed therapy</i>
ELAM	Moléculas de adhesión leucocitaria endotelial
EPO	Eritropoyetina
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
ERC	Enfermedad Renal Crónica
ESICM	<i>European Society of Intensive Care Medicine</i>
FNT α	Factor de Necrosis Tumoral α
G-	Gram negativas
G+	Gram positivas
GM-CSF	Factor estimulante de monocitos y granulocitos
HTA	Hipertensión arterial
IC	Intervalo de Confianza
ICAM	Moléculas de adhesión intercelular
IFNγ	Interferón gamma
IL	Interleucinas
IQR	Rango intercuartílico

LBP	<i>Lipopolysaccharide binding protein</i>
LIF	Factor Inhibitorio de Leucemias
LPS	Lipopolisacárido
LR	<i>Likelihood ratio</i>
NAC	Neumonía Adquirida en la Comunidad
NO	Óxido nítrico
OSM	<i>Oncostatin M</i>
PAF	Factor Activador de las Plaquetas
PAI-1	Inhibidor 1 del plasminógeno activado
PAM	Presión Arterial Media
PAS	Presión Arterial Sistólica
PCR	Proteína C Reactiva
PGE	Prostaglandinas E
Pro-ADM	Pro-adrenomedulina
PSP/reg	Proteína Regeneradora 1-alfa
qSOFA	<i>quick SOFA</i>
RLO	Radicales libres
SCCM	<i>Society of Critical Care Medicine</i>
sCD14-ST	Presepsina
SIS	<i>Surgical Infection Society</i>
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
SRAC	Síndrome de Respuesta Antiinflamatoria Compensadora
SRIS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
SSC	<i>Surviving Sepsis Campaign</i>
sTREM-1	<i>Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1</i>
suPAR	<i>Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor</i>

TAFI	Inhibidor de la fibrinólisis activado por la trombina
TLR	<i>Toll-Like Receptor</i>
TPA	Ativador tisular del plasminógeno
TSS-1	Superantígenos Toxic Shock Syndrome
TXA	Tromboxanos
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VCAM	Moléculas de adhesión de la célula vascular
VPN	Valor Predictivo Negativo
VPP	Valor Predictivo Positivo

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.1. Disfunción de órganos</i>	<i>24</i>
<i>Tabla 1.2. Criterios diagnósticos de la inflamación sistémica</i>	<i>26</i>
<i>Tabla 1.3. Órganos o sistemas valorados en SOFA.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabla 1.4. Criterios de valoración de la escala qSOFA.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabla 1.5. Diferencias entre las definiciones de sepsis.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabla 1.6. Cómo se puede utilizar un biomarcador, cuyos niveles aumentan en sepsis, para responder a preguntas clínicamente importantes</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 1.7. Concentraciones de PCR según edad y estado fisiológico</i>	<i>51</i>
<i>Tabla 1.8. Causas de falsos positivos y negativos de la PCT.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 1.9. Valores de corte de la presepsina.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabla 4.1. Biomarcadores de infección analizados</i>	<i>75</i>
<i>Tabla 4.2. Características de las magnitudes medidas en suero</i>	<i>78</i>
<i>Tabla 4.3. Características de las magnitudes medidas en sangre total.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabla 5.1. Características basales de la población de estudio.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabla 5.2. Características basales de la población con diagnóstico de infección</i>	<i>84</i>
<i>Tabla 5.3. Características microbiológicas de la población con diagnóstico de infección</i>	<i>85</i>
<i>Tabla 5.4. Relación de las concentraciones de los biomarcadores estudiados entre grupo de pacientes y grupo control.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabla 5.5. Rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de infección.....</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 5.6. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT y sCD25+PCT, en comparación con la PCT para el diagnóstico de infección</i>	<i>89</i>
<i>Tabla 5.7. Relación de las concentraciones de los biomarcadores estudiados para el diagnóstico de sepsis</i>	<i>90</i>
<i>Tabla 5.8. Rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de sepsis.....</i>	<i>92</i>
<i>Tabla 5.9. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT, sCD25 +PCT, en comparación con la PCT para el diagnóstico de sepsis.</i>	<i>92</i>

<i>Tabla 5.10. Relación de las concentraciones de los biomarcadores en la severidad de la sepsis</i>	<i>94</i>
<i>Tabla 5.11. Rendimiento de los biomarcadores para la evaluación de la severidad de la sepsis</i>	<i>96</i>
<i>Tabla 5.12. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT, sCD25+PCT, en comparación con la PCT para la evaluación de la severidad de la sepsis.....</i>	<i>96</i>
<i>Tabla 5.13. Relación de las concentraciones de los biomarcadores y el foco de infección</i>	<i>97</i>
<i>Tabla 5.14. Concentración de biomarcadores en pacientes infectados con y sin bacteriemia</i>	<i>99</i>
<i>Tabla 5.15. Rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de bacteriemia</i>	<i>101</i>
<i>Tabla 5.16. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT y sCD25 +PCT, en comparación con la PCT para el diagnóstico de bacteriemia</i>	<i>102</i>
<i>Tabla 5.17. Concentración de biomarcadores en pacientes con bacteriemia en función de la etiología</i>	<i>103</i>
<i>Tabla 5.18. Características de los pacientes con y sin mortalidad hospitalaria. Relación de concentraciones entre ambos grupos</i>	<i>104</i>
<i>Tabla 5.19. Rendimiento de los biomarcadores para la predicción de mortalidad hospitalaria.....</i>	<i>107</i>
<i>Tabla 5.20. Análisis univariante y multivariante con respecto a la mortalidad hospitalaria hospitalaria.....</i>	<i>108</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.1. Mecanismo de la sepsis</i>	<i>32</i>
<i>Figura 1.2. Mecanismo de inicio de la sepsis.....</i>	<i>35</i>
<i>Figura 1.3. Coagulación en sepsis</i>	<i>37</i>
<i>Figura 1.4. Diagnóstico de sepsis desde la infección</i>	<i>42</i>
<i>Figura 1.5. Cinética de los biomarcadores de sepsis</i>	<i>49</i>
<i>Figura 1.6. Estructura de la PCT.....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 1.7. Proceso de liberación de la PCT.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 1.8. Activación de la presepsina.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 1.9. Fracciones de ADM</i>	<i>57</i>
<i>Figura 1.10. Proceso de escisión del sCD25</i>	<i>59</i>
<i>Figura 5.1. Diagrama de cajas de PSP para el diagnóstico de infección</i>	<i>86</i>
<i>Figura 5.2. Diagrama de cajas de sCD25 para el diagnóstico de infección.....</i>	<i>87</i>
<i>Figura 5.3. Diagrama de cajas de PCT para el diagnóstico de infección.....</i>	<i>87</i>
<i>Figura 5.4. Curvas ROC para los biomarcadores de infección y sus asociaciones con la PCT para el diagnóstico de infección</i>	<i>89</i>
<i>Figura 5.5. Diagrama de cajas de PSP para evaluar el diagnóstico de sepsis</i>	<i>90</i>
<i>Figura 5.6. Diagrama de cajas de sCD25 para el diagnóstico de sepsis</i>	<i>91</i>
<i>Figura 5.7. Diagrama de cajas de PCT para el diagnóstico de sepsis.....</i>	<i>91</i>
<i>Figura 5.8. Curvas ROC para los biomarcadores de infección y sus asociaciones con la PCT para el diagnóstico de sepsis</i>	<i>94</i>
<i>Figura 5.9. Diagrama de cajas de PSP para evaluar la severidad de la sepsis</i>	<i>95</i>
<i>Figura 5.10. Diagrama de cajas de sCD25 para evaluar la severidad de la sepsi...95</i>	<i>95</i>
<i>Figura 5.11. Diagrama de cajas de PCT para evaluar la severidad de la sepsis.....95</i>	<i>95</i>
<i>Figura 5.12. Diagrama de cajas de PSP y el foco de infección</i>	<i>97</i>
<i>Figura 5.13. Diagrama de cajas de sCD25 y el foco de infección</i>	<i>98</i>
<i>Figura 5.14. Diagrama de cajas de PCT y el foco de infección</i>	<i>98</i>
<i>Figura 5.15. Diagrama de cajas de PSP para evaluar la presencia de bacteriemia.99</i>	<i>99</i>
<i>Figura 5.16. Diagrama de cajas de sCD25 para evaluar la presencia de bacteriemia</i>	<i>100</i>

<i>Figura 5.17. Diagrama de cajas de PCT para evaluar la presencia de bacteriemia</i>	100
<i>Figura 5.18. Curvas ROC para los biomarcadores de infección y sus asociaciones con la PCT para el diagnóstico de bacteriemia</i>	102
<i>Figura 5.19. Diagrama de cajas de PSP para la predicción de mortalidad hospitalaria</i>	105
<i>Figura 5.20. Diagrama de cajas de sCD25 para la predicción de mortalidad hospitalaria</i>	105
<i>Figura 5.21. Diagrama de cajas de PCT para la predicción de mortalidad hospitalaria</i>	106
<i>Figura 5.22. Curvas ROC de los biomarcadores para la predicción de mortalidad hospitalaria</i>	107

RESUMEN

Utilidad de la Procalcitonina, Pancreatic Stone Protein (PSP) y Fracción soluble de CD25 (sCD25) como biomarcadores para el diagnóstico de infección y sepsis

Introducción e hipótesis

Las enfermedades infecciosas constituyen un grave problema de salud en el mundo, asociándose con una elevada morbilidad y mortalidad en todos los ámbitos de la asistencia sanitaria. De entre ellas, la sepsis forma parte del grupo de enfermedades tiempo dependiente, entendiendo como tales aquellas en las que el retraso diagnóstico terapéutico influyen negativamente en la evolución del proceso y por tanto la aplicación precoz de una serie de medidas diagnóstico terapéuticas, entre las que se incluyen la terapia antibiótica así como el soporte hemodinámico adecuado, mejoran de forma significativa la supervivencia y el pronóstico de este tipo de pacientes.

Para el diagnóstico de estas patologías nos podemos ayudar de pruebas microbiológicas, pero, las propias características de estas pruebas suponen una limitación para un diagnóstico rápido, porque la obtención de resultados no es inmediata y además, estas pruebas pueden estar condicionadas por la toma previa de antibióticos.

Por ello, la disponibilidad de otras herramientas, como los marcadores bioquímicos, probablemente en combinación con criterios clínicos, es esencial en la toma de decisiones ante este tipo de pacientes, así como la categorización de la severidad como base para la toma de decisiones diagnóstico-terapéuticas, son necesarias en el manejo de esta patología, pudiendo modificar sustancialmente el pronóstico de los pacientes.

Existen numerosos biomarcadores empleados con esta finalidad; los más utilizados en la práctica clínica, quizás porque tienen la ventaja de estar automatizados, son la PCR (Proteína C Reactiva), PCT (procalcitonina) y diversas citocinas.

Debido a la complejidad de la patología de la infección se están haciendo numerosos estudios con otros biomarcadores emergentes como la presepsina (sCD14-ST), la MR-Proadrenomedulina (Pro-AMP), el *Soluble-Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 1* (S-TREM 1), el *soluble urokinase-type Plasminogen Activator Receptor* (suPAR), *Pancreatic Stone Protein* (PSP) y CD25 soluble (sCD25) entre otros, siendo los dos últimos objeto de este estudio.

La hipótesis principal del trabajo consiste en que la medida aislada de PSP y sCD25 o su combinación con alguno de los tradicionales disponibles, como la PCT, puede ser una herramienta útil para la detección precoz de la infección/sepsis en los Servicios de Urgencias Hospitalarios (SUH). La confirmación de esta hipótesis atribuiría a dichos marcadores una utilidad en el diagnóstico de dicha patología y su posible inclusión en los protocolos de manejo del paciente con sospecha de infección.

Objetivos

Los objetivos de la presente tesis doctoral son los que siguen:

1. Evaluar el rendimiento de dos biomarcadores de infección emergentes, PSP y sCD25, comparado con el de la PCT, para el diagnóstico de infección en pacientes atendidos en un SUH por sospecha de infección.
2. En pacientes con infección, evaluar el rendimiento de PSP y sCD25 comparado con el de la PCT para el diagnóstico de sepsis.
3. En pacientes con sepsis, evaluar la asociación de las concentraciones de PSP, sCD25 y PCT con la severidad de la sepsis.
4. Evaluar la influencia del foco de infección en las concentraciones de los biomarcadores.

5. Evaluar el rendimiento de PSP y sCD25 comparado con el de la PCT para la detección de bacteriemia y valorar la influencia de la etiología en las concentraciones de estos biomarcadores en pacientes con bacteriemia.

6. Analizar el rendimiento de los biomarcadores, como factores predictores de mortalidad hospitalaria en pacientes con infección.

Materiales y métodos

Se diseñó un estudio prospectivo observacional unicéntrico en el Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena desde Octubre hasta Diciembre del 2013, aprobado por el Comité de Ética.

Se incluyeron en el estudio pacientes con edad igual o superior a 14 años, con sospecha de infección, a juicio del clínico responsable de la atención al paciente en el SUH, a los cuales se les realizó una solicitud de hemocultivo y/o de otros fluidos biológicos, a juicio clínico y en base a la sospecha de infección en el momento de la evaluación inicial del paciente. Se excluyeron a las mujeres gestantes.

La presencia de infección y sepsis fue definida de forma retrospectiva por dos especialistas en Medicina Intensiva mediante el análisis de los datos clínicos, radiológicos y de laboratorio, recogidos en la historia clínica del paciente.

Para la clasificación posterior de los pacientes infectados se utilizó la tercera definición de sepsis. De acuerdo con estos criterios, los pacientes infectados se clasificaron en subgrupos "Sepsis" e "Infección no complicada".

Resultados

En cuanto al diagnóstico de infección y de sepsis los 3 biomarcadores presentaron un elevado rendimiento, tanto aislados como en combinación con la PCT. No fue así para la detección de la severidad de la sepsis, en el

que sólo el sCD25 obtiene significación estadística aunque de forma marginal.

Sí son buenos biomarcadores para la detección de bacteriemia debido a los rendimientos obtenidos, pero no se obtiene significación estadística en cuanto a la etiología en estos pacientes. Tampoco se obtiene significación estadística respecto a las concentraciones y el foco en pacientes con infección.

Finalmente, como predictores de mortalidad hospitalaria obtienen buenos rendimientos PSP y sCD25, no siendo así en el caso de la PCT.

Conclusiones

1. Los 3 biomarcadores estudiados presentaron buenos rendimientos en el diagnóstico de infección en pacientes atendidos en un SUH por sospecha de infección, tanto solos como en combinación con la PCT, aumentándose en este caso el rendimiento.
2. Los 3 biomarcadores estudiados obtuvieron buenos rendimientos en el diagnóstico de sepsis, tanto solos como en combinación con la PCT, aumentándose en este caso el rendimiento.
3. Sólo el sCD25 presentó niveles más altos en los pacientes con shock séptico, aunque de forma marginal. PSP y PCT no son buenos biomarcadores para evaluar la severidad de la sepsis.
4. No se observó influencia entre foco de infección y las concentraciones de los biomarcadores
5. Los 3 biomarcadores obtuvieron buenos rendimientos para la detección de bacteriemia. No se observó influencia de la etiología en las concentraciones de estos biomarcadores en estos pacientes.
6. Sólo PSP y sCD25 obtuvieron buenos rendimientos para la predicción de mortalidad hospitalaria.

SUMMARY

Usefulness of Procalcitonin, Pancreatic Stone Protein (PSP) and soluble fraction of CD25 (sCD25) as biomarkers for the diagnosis of infection and sepsis

Introduction and hypothesis

Infectious diseases are a serious health problem in the world, associated with high morbidity and mortality in all areas of health care. Among them, sepsis is part of the group of time dependent diseases, understanding as such those in which the therapeutic diagnostic delay, negatively influence the evolution of the process and therefore the early application of a series of diagnostic therapeutic measures, among which is included antibiotic therapy and adequate hemodynamic support, significantly improve patient survival and prognosis.

For the diagnosis of these pathologies we can help microbiological tests, but the characteristics of these tests are a limitation for a rapid diagnosis, because the results are not immediate and in addition, these tests can be conditioned by the previous taking antibiotics.

Therefore, the availability of other tools, such as biochemical markers, probably in combination with clinical criteria, is essential in the decision making of this type of patients, as well as the categorization of severity as a basis for diagnostic therapeutic decisions, are necessary in the management of this pathology, being able to modify substantially the prognosis of the patients.

There are numerous biomarkers used for this purpose; The most used in clinical practice, perhaps because they have the advantage of being automated, are PCR (Protein C Reactive), PCT (procalcitonin) and various cytokines.

Due to the complexity of the pathology of infection, numerous studies are being done with other emerging biomarkers such as presepsin (sCD14-ST), MR-Proadrenomedulin (Pro-AMP), Soluble-Triggering Receptors Expressed on Myeloid cells 1 (S-TREM 1), soluble urokinase-type Plasminogen Activator Receptor (suPAR), Pancreatic Stone Protein (PSP) and soluble CD25 (sCD25) among others, being the last two objects of this study.

The main hypothesis of the work is that the isolated measurement of these biomarkers or their combination with some of the available traditional ones, such as PCT, can be a useful tool for the early detection of infection / sepsis in the Emergency Department (ED). Confirmation of this hypothesis would attribute to these markers a utility in the diagnosis of this pathology and its possible inclusion in the management protocols of the patient with suspected infection.

Aim of the study

The objectives of this doctoral thesis are as follows:

1. To evaluate the performance of two emerging biomarkers of infection, PSP and sCD25, compared to that of PCT, for the diagnosis of infection in patients treated in an Emergency Department for suspicion of infection.
2. In patients with infection, evaluate the performance of PSP and sCD25 compared to that of PCT for the diagnosis of sepsis.
3. In patients with sepsis, evaluate the association of PSP, sCD25 and PCT concentrations with the severity of sepsis.
4. Study the influence of the focus of infection on the concentrations of the biomarkers.
5. Evaluate the performance of PSP and sCD25 compared to that of PCT for the detection of bacteremia and to assess the influence of etiology on the concentrations of these biomarkers in patients with bacteremia.

6. Analyze the performance of biomarkers as predictors of hospital mortality in patients with infection.

Material and methods

A prospective observational, unicentric study was designed at the University Hospital Santa Lucía in Cartagena from October to December 2013, approved by the Ethics Committee.

Patients aged 14 years and older with suspected infection were included in the study, according to the clinician responsible for patient care in the ED who were asked for blood cultures and /or other biological fluids, with clinical judgment and based on the suspicion of infection at the time of the initial evaluation of the patient. Pregnant women were excluded.

The presence of infection and sepsis was retrospectively defined by two specialists in Intensive Medicine through the analysis of clinical, radiological and laboratory data, collected in the patient's medical history.

For the subsequent classification of infected patients, the third definition of sepsis was used. According to these criteria, infected patients were classified into subgroups "Sepsis" and "Uncomplicated Infection".

Results

No other studies have been found that evaluate the performance of the biomarkers mentioned in the field of ED.

For the diagnosis of infection and sepsis, the 3 biomarkers presented a high performance, both isolated and in combination with PCT. Different results were obtained for the detection of the severity of sepsis, in which only sCD25 obtains statistical significance although marginally.

They are good biomarkers for the detection of bacteraemia because of the performances obtained, but no statistical significance is obtained regarding the etiology in these patients; not statistical significance was

obtained respect to the focus and the biomarker concentrations in patients with infection.

Finally, as predictors of hospital mortality, PSP and sCD25 had good performances but not for PCT.

Conclusions

1. The 3 biomarkers studied showed good performance in the diagnosis of infection in patients treated in an ED for suspicion of infection, alone and in combination with PCT, increasing in this case the yield.

2. The 3 biomarkers studied showed good performance in the diagnosis of sepsis, alone and in combination with PCT, increasing in this case the yield.

3. Only sCD25 had higher levels in patients with septic shock, although marginally. PSP and PCT are not good biomarkers to assess the severity of sepsis.

4. No influence was observed between outbreak of infection and concentrations of biomarkers.

5. The 3 biomarkers obtained good yields for the detection of bacteremia. There was no etiology influence on the concentrations of these biomarkers in these patients.

6. Only PSP and sCD25 obtained good yields for predicting hospital mortality.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 DEFINICIÓN DE INFECCIÓN- SEPSIS

Tradicionalmente, la respuesta sistémica a la infección ha sido la condición definida como sepsis [1]. Otros autores definen la sepsis como el término clínico para describir la respuesta sistémica a la división y la invasión de microorganismos de todos los tipos o partes de ellos, bacterias Gram negativas, Gram positivas, hongos y virus [2].

Tanto el establecimiento de una definición como las manifestaciones clínicas de la sepsis han sido causa de controversia. En 1991, el *American College of Chest Physicians* (ACCP) y la *Society of Critical Care Medicine* (SCCM) realizaron una Conferencia de Consenso [3], en la que se instauraron las definiciones correspondientes, para así intentar terminar con el repertorio de conocimientos confusos que existía en el entorno de estos pacientes sépticos.

Se establecieron los siguientes términos: se introdujo el término SRIS (Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica), siendo definido como aquella respuesta generalizada del organismo ante determinados estímulos, tanto de etiología infecciosa como no infecciosa, en la que tienen lugar dos o más de los siguientes hallazgos clínicos:

- Temperatura mayor de 38°C o menor de 36°C.
- Frecuencia cardíaca mayor de 90 latidos por minuto.
- Hiperventilación con frecuencia respiratoria > 20 respiraciones por minuto o PaCO₂ <32mmHg.
- Alteración del recuento de leucocitos con más de 12.000 o menos de 4.000/mm³, o más del 10% de cayados.

También podía llevar asociado una presión arterial sistólica (PAS) <90mmHg, o presión arterial media (PAM) <70 mm Hg, o descenso >40 mm Hg de la presión habitual, en ausencia de otras causas de hipotensión además de una hipoperfusión tisular caracterizada por un lactato >

2mmol/L, enlentecimiento del relleno capilar o alteración del nivel de conciencia.

En cuanto a la disfunción de órganos presente en esta patología, las características de los mismos son las presentadas en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Disfunción de órganos

Renal:
<ul style="list-style-type: none"> • Diuresis <0,5 ml/Kg/h durante más de dos horas a pesar de adecuado aporte de fluidos • Creatinina plasmática >2,0 mg/dl
Pulmonar:
<ul style="list-style-type: none"> • PaO₂/FiO₂ <250 en ausencia de neumonía • PaO₂/FiO₂ <200 en presencia de neumonía
Circulatorio:
<ul style="list-style-type: none"> • Hipotensión inducida por sepsis que persiste durante más de una hora, pese a la reposición de volumen • Necesidad de vasopresores • SvcO₂ < 70%. Hiperlactacidemia
Coagulación:
<ul style="list-style-type: none"> • Plaquetas <100 x10⁹/L • Coagulopatía (INR >1,5 o TTP >60 segundos)
Hepático:
<ul style="list-style-type: none"> • Bilirrubina plasmática > 2 mg/dl
Intestinal:
<ul style="list-style-type: none"> • Íleo
Neurológico:
<ul style="list-style-type: none"> • Alteración de conciencia

Aunque se definieron estos criterios, son de carácter inespecífico y, por lo tanto, no patognomónicos para el diagnóstico de la causa del síndrome. Por eso, años después, en 2001, en una nueva Conferencia de Consenso en la que intervinieron los mismos organismos junto con otras sociedades norteamericanas y europeas [*European Society of Intensive Care Medicine* (ESICM), la *American Thoracic Society* (ATS) y la *Surgical Infection Society* (SIS)] [4], se presentó una nueva lista, más extensa en criterios diagnósticos de inflamación sistémica en respuesta a la infección [5], de manera que el reconocimiento de alguno de estos criterios podría conducir a una identificación más rápida del paciente con sepsis.

En la Tabla 1.2, se muestran los criterios diagnósticos de inflamación sistémica en respuesta a la infección [5].

Sin embargo, es necesario hacer hincapié en que ninguno de los criterios consensuados (descritos en la Tabla 1.2) es específico para un proceso séptico [6].

En base a estos síntomas y signos de la conferencia de consenso, se han establecido los diferentes estadios del proceso séptico:

- Sepsis: es el SRIS debido a infección documentada, clínica y/o microbiológicamente.
- Sepsis grave: aquella sepsis que se asocia a una disfunción orgánica, que puede definirse con la escala SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) (ver la Tabla 1.3) (3), con hipotensión (PAS <90 mm Hg) o disminución de 40 mm Hg o más de la PAS con respecto a valores basales del paciente, en ausencia de otras causas de hipotensión) o hipoperfusión (acidosis láctica, oliguria, alteración aguda del estado mental).
- Shock séptico: Hipotensión causada por la sepsis, que se mantiene a pesar de la administración de líquidos y fármacos vasoactivos. Se acompaña de la presencia de alteraciones en la perfusión y/o disfunción de órganos.

Tabla 1.2. Criterios diagnósticos de la inflamación sistémica

Parámetros generales
<ul style="list-style-type: none"> • Fiebre (temperatura central $>38,3^{\circ}\text{C}$) o hipotermia (temperatura central $<36^{\circ}\text{C}$) • Frecuencia cardíaca >90 lpm • Taquipnea: Frecuencia respiratoria > 20 rpm o presión parcial de dióxido de carbono (pCO_2) <32 mm de Hg • Alteración del estado mental • Edema significativo o balance positivo de fluidos (>20 mL/Kg durante más de 24 horas) • Hiperglucemia: Srm-Glucosa;c.masa >110 mg/dL en ausencia de diabetes
Parámetros de inflamación
<ul style="list-style-type: none"> • Leucocitosis: San-Leucocitos; c.num $>12000/\text{mm}^3$ • Leucopenia: San-Leucocitos; c.num $<4000/\text{mm}^3$ • Recuento de leucocitos normal con un porcentaje de formas inmaduras (bandas o cayados) $>10\%$ • PCT >2 DE del valor normal
Parámetros hemodinámicos
<ul style="list-style-type: none"> • Hipotensión arterial (PAS <90 mm Hg, PAM <70 mm Hg o un descenso de la PAS > 40 mm Hg o <2 DE respecto al valor normal estratificado por la edad) • $\text{SvO}_2 >70\%$ • Índice cardíaco $>3,5$ L/min/m²
Variables de disfunción orgánica
<ul style="list-style-type: none"> • Hipoxemia arterial ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) <300 • Oliguria aguda (diuresis $<0,5$ mL/kg/h durante al menos 2 horas a pesar de un aporte adecuado de líquidos) • Incremento de la concentración sérica de creatinina $>0,5$ mg/dL • Trastornos de la coagulación: INR $>1,5$ o TTPA >60 segundos • Ileo (ausencia de ruidos intestinales) • Trombopenia: recuento de plaquetas $<100000/\text{mm}^3$ • Hiperbilirrubinemia: bilirrubina sérica >4 mg/dL
Parámetros de perfusión tisular
<ul style="list-style-type: none"> • San-Lactato; c-sust >1 mmol/L • Mal relleno capilar

Tabla 1.3. Órganos o sistemas valorados en SOFA

SOFA score	0	1	2	3	4
Apto respiratorio PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg) SaO ₂ /FiO ₂	>400	<400 221-301	<300 142-220	<200 67-141	<100 <67
Hemostasia Plaquetas 103/mm ³	>150	<150	<100	<50	<20
Función hepática Bilirrubina (mg/dL)	<1,2	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	>12
Sistema cardiovascular Hipotensión	No	PAM <70	Dopamina/ Dobutamina ≤5	Dopamina >5/ Norepinefrina ≤0,1	Dopamina >15/ Norepinefrina >0,1
Sistema nervioso central Escala Coma Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	<6
Función renal Creatinina (mg/dL)	<1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9	>5

Tras la segunda definición, en los años 2004, 2008 y 2012 se publicaron las guías de la SSC (*Surviving Sepsis Campaign*) [7], destinadas a proporcionar una ayuda al clínico para la identificación y el manejo el cuidado de los pacientes con sepsis grave o shock séptico, y cuyo objetivo principal era la identificación precoz del paciente y la instauración rápida de tratamiento a fin de mejorar su pronóstico. La meta final era la reducción de la mortalidad de la sepsis especialmente en sus estadios más graves (sepsis grave y shock séptico). En este sentido, en los SUH se debe hacer un esfuerzo para conseguir un diagnóstico precoz, tratamiento inmediato, así como la realización de una correcta toma de muestras microbiológicas en las primeras horas, acciones todas ellas que contribuyen a minimizar la mortalidad.

De forma similar, en España se elaboró un documento de consenso en el que se aportaban aspectos diferenciados, tales como un concepto más amplio de la propia enfermedad, una visión multidisciplinar evolutiva del proceso o una valoración de la implantación de mecanismos organizativos, desde el proceso educativo y de formación continuada, hasta cómo estructurar los diferentes modelos asistenciales y cómo medir dichos cambios a través de indicadores de calidad reproducibles y comparables entre los centros [8].

Años después, en 2014, el grupo de trabajo formado por expertos en sepsis de la ESICM y de la SCCM, se reunió para elaborar la Tercera Conferencia, que finaliza con la publicación de la nueva definición de Sepsis [9].

Las principales novedades con respecto a la anterior son:

- Por su inespecificidad, desaparecen los criterios de SRIS de la definición de sepsis. En respuesta a esta nueva definición, en Marzo del 2016, la SSC publicó un documento [10], en el cual se ofrecen aclaraciones sobre las implicaciones de las nuevas instrucciones de esta tercera definición, con el fin de mantener el éxito de la detección temprana de la sepsis y seguir mejorando la supervivencia, tal y como había sucedido en la década anterior [11], En este documento se hace hincapié en

que la detección y la identificación de los pacientes con sepsis (anteriormente denominada sepsis grave) han de ser tempranas y deben seguir realizándose según las recomendaciones previamente establecidas, que incluyen el uso de los signos y síntomas clásicos para la identificación de la infección, algunos de los cuales se corresponden con los criterios de SRIS [10].

- Desaparece el concepto de sepsis grave, ya que la propia definición de sepsis implica la presencia de disfunción orgánica, definida mediante la escala SOFA. Probablemente este nuevo concepto sea el aspecto clave en la nueva definición, que enfatiza que la sepsis es a menudo más fácilmente reconocida desde la disfunción orgánica asociada que desde el reconocimiento de la infección [12], más difícil de identificar dada la gran variabilidad de los signos y síntomas, especialmente en poblaciones como los ancianos [13]. El cálculo de la escala SOFA es habitual en el contexto de los Cuidados Intensivos, pero no en los SUH o en las plantas de Hospitalización; además, el cálculo de la misma requiere de una serie de determinaciones analíticas para el reconocimiento de la disfunción orgánica, que supondría un retraso en la toma rápida de decisiones, clave en el pronóstico del paciente. Por ello, los autores de la nueva definición de sepsis recomiendan en estos contextos la utilización de una escala más simple, denominada qSOFA (quick SOFA), (ver la
- Tabla 1.4) como herramienta para incrementar la sospecha de sepsis y la toma de decisiones rápidas en el manejo de estos pacientes [14].

Sin embargo, algunos autores, tras la publicación de la nueva definición de sepsis, han aclarado que la escala qSOFA, basada en signos y/o síntomas clínicos, no reemplaza los criterios SIRS para establecer la sospecha de sepsis [12] [15][16].

Tabla 1.4. Criterios de valoración de la escala qSOFA

Parámetros qSOFA
<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia respiratoria $\geq 22/\text{min}$
<ul style="list-style-type: none"> • Alteración del estado mental
<ul style="list-style-type: none"> • Presión sistólica $\leq 100 \text{ mmHg}$

- Además, en la situación clínica de shock séptico, adquieren importancia los fallos a nivel metabólico, además de los fallos circulatorios. A nivel circulatorio, se asocia a la necesidad de drogas vasopresoras para mantener una PAM $\geq 65 \text{ mmHg}$. A nivel metabólico, el shock séptico se identifica por valores de lactato $> 2 \text{ mmol/L}$ a pesar de una adecuada reposición volémica.

En la Tabla 1.5 se muestran las diferencias más significativas entre las dos definiciones.

- Finalmente, uno de los aspectos quizás más controvertidos de la definición actualizada de sepsis es la falta de referencia a la posible utilidad de marcadores bioquímicos en la identificación del paciente con sepsis, sí incluidos en definiciones anteriores [7] [17] y ampliamente implantados en la práctica clínica como la proteína C reactiva (PCR) y la PCT.

Tabla 1.5. Diferencias entre las definiciones de sepsis

	Definición antigua	Definición 2016
Sepsis	<p>SRIS + Infección sospechada</p>	<p>Infección sospechada/documentada + 2 ó 3 criterios qSOFA ó Aumento del nivel basal de SOFA en 2 o más puntos</p>
Sepsis Severa	<p>Sepsis + <ul style="list-style-type: none"> • PSS <90 mmHg o PAM <65 mmHg • Lactato >2 mmol/L • INR >1.5 o TTP >60s • Bilirrubina > 2mg/dL • Exc urinaria <0.5 mL/Kg/h durante 2h • Creatinina > 2mg/dL • Plaquetas < 100.000/mm³ • SpO₂ < 90% </p>	-----
Shock séptico	<p>Sepsis + Hipotension (A pesar de recibir una fluidoterapia adecuada)</p>	<p>Sepsis + Vasopresores para conseguir PAM >65mmHg + Lactato > 2mmol/L (A pesar de recibir fluidoterapia adecuada)</p>

1.2 FISIOPATOLOGÍA DE LA SEPSIS

La sepsis es consecuencia de una respuesta inmunológica desmesurada y, por lo tanto, patológica, a la infección. En este mecanismo se producen mediadores proinflamatorios que contribuyen a la erradicación de los microorganismos invasores, y antiinflamatorios que modulan esta respuesta [18]. Ver la Figura 1.1.

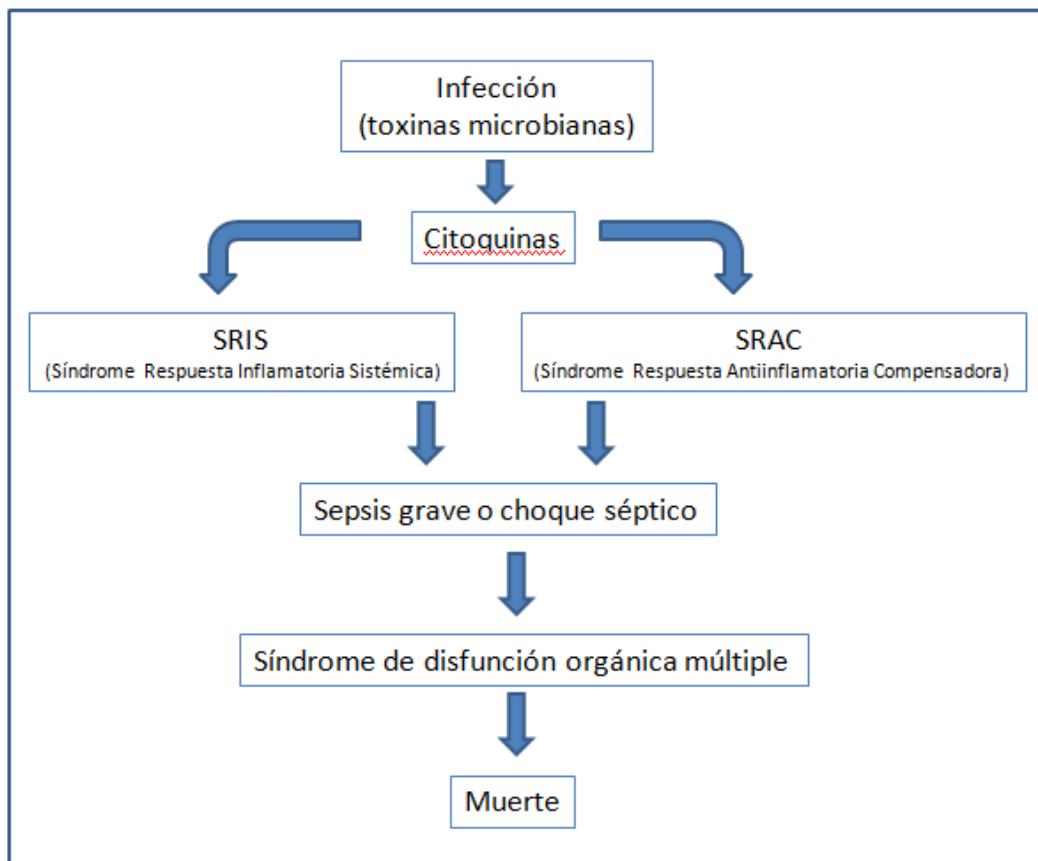


Figura 1.1. Mecanismo de la sepsis

El sistema inmunológico se encarga de reconocer y, en consecuencia, reaccionar ante señales consideradas por el organismo como peligrosas; dichas señales pueden ser tanto moléculas exógenas como moléculas asociadas a patógenos, tales como las endotoxinas, lipoproteínas, otras proteínas de membrana, flagelina, fimbrias, peptidoglucanos, etc. Estas

señales son reconocidas por una serie de receptores presentes en las células, que lo que hacen es inducir la liberación de citocinas.

En los seres humanos hay tres grupos principales de células que proporcionan una defensa más compleja que la que proporcionan las barreras físicas. Dos de ellas son los neutrófilos y la serie monocito-macrófago, que son células fagocíticas que actúan mayoritariamente digiriendo bacterias, desechos celulares y otras partículas.

El tercer grupo es el formado por los linfocitos y sus elementos, que tienen poca capacidad fagocítica, pero participan en la respuesta inmunitaria.

Los tres grupos son esenciales para el buen funcionamiento del organismo y generalmente actúan en conjunto, dependiendo el uno del otro para conseguir su máxima eficiencia [19].

La inflamación que se produce inicialmente, llamada también SRIS, es una respuesta rápida, humoral y celular, muy amplificada pero controlada, que desencadena un conjunto de reacciones, consideradas benignas y adecuadas, en tanto que este proceso sea correctamente regulado. Las reacciones que se desarrollan tienen componentes proinflamatorios y antiinflamatorios, y se van a producir cuatro eventos fundamentales: vasodilatación, incremento de la permeabilidad vascular, activación y adhesión celular y activación de la cascada de la coagulación [20].

Sin embargo, la secuencia de fenómenos que conducen a la sepsis comienzan con la bacteriemia [21].

El lipopolisacárido (LPS) o endotoxina presente en la membrana externa de las bacterias Gram negativas (G-), es la molécula que interacciona con el sistema retículo endotelial [21]. Se trata de una molécula constituida por un componente antigénico variable y una parte relativamente constante a la que se le llama lípido A. El comienzo de la sepsis tiene lugar debido a la liberación de dicho LPS en las G-, y al ácido lipoteicoico y peptidoglucanos en el caso de las Gram positivas (G+). También puede deberse a la liberación de otros antígenos, como los glucolípidos de las micobacterias, fúngicos como los mananos de la pared celular de las levaduras o los antígenos víricos [22].

Se trata de un mecanismo complejo, en el que inicialmente hay una activación de la cascada inflamatoria a través de receptores presentes en las superficies de ciertas células. Por ejemplo, en el caso del LPS, se requiere de una unión al Lipopolysaccharide binding protein (LBP), glucoproteína sintetizada en el hígado [23].

Cuando esta unión se produce se forma un complejo LPS-LBP, que es capaz de unirse al CD14, receptor localizado en la superficie celular de monocitos (a nivel sanguíneo) y macrófagos (a nivel tisular), produciendo su activación.

Una vez que dicho receptor se activa, se transmite una señal intracelular, que en el caso de las bacterias G- está mediada por una proteína transmembrana llamada toll-like receptor (TLR) de tipo 4 y TLR de tipo 2 si se trata de G+, micobacterias u hongos. Ello lleva a la activación de mediadores intracelulares que inician procesos de transcripción nuclear, obteniendo como resultado final la excreción del factor de necrosis tumoral α (FNT α) [24]. Esta liberación de FNT α conlleva la excreción de interleucinas (IL) diferentes, de la 1 a la 6, siendo claves en la producción de los efectos sistémicos. (Ver la Figura 1.2).

Por otro lado, los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en la sepsis producida por los microorganismos G (+) son menos conocidos. Se cree que pueden actuar como promotores de la respuesta inflamatoria componentes presentes en la pared celular (peptidoglicanos y ácido lipoteicoico), cápsulas de polisacáridos, ácido hialurónico y factores liposolubles, como los superantígenos *Toxic Shock Syndrome* (TSS-1), del síndrome de shock tóxico estafilocócico y toxina eritrogénica del estreptococo grupo A, desencadenantes de la respuesta inflamatoria [25].

Como se ha mencionado anteriormente, una de las familias de mediadores de la respuesta inflamatoria que mejor se conoce es la de las citocinas, glucoproteínas de bajo peso molecular que actúan como señales de interacción celular [26]. La aparición de estos mediadores funciona como un mecanismo de cascada, en el que se produce una estimulación inicial en el monocito/macrófago, que genera la liberación de una citocina (TNF- α), que es proinflamatoria [18]. Esta liberación de TNF α promueve

la secreción de otras citocinas, tanto activadoras de la inflamación como contrarias a este efecto [22]. (Ver la Figura 1.2).

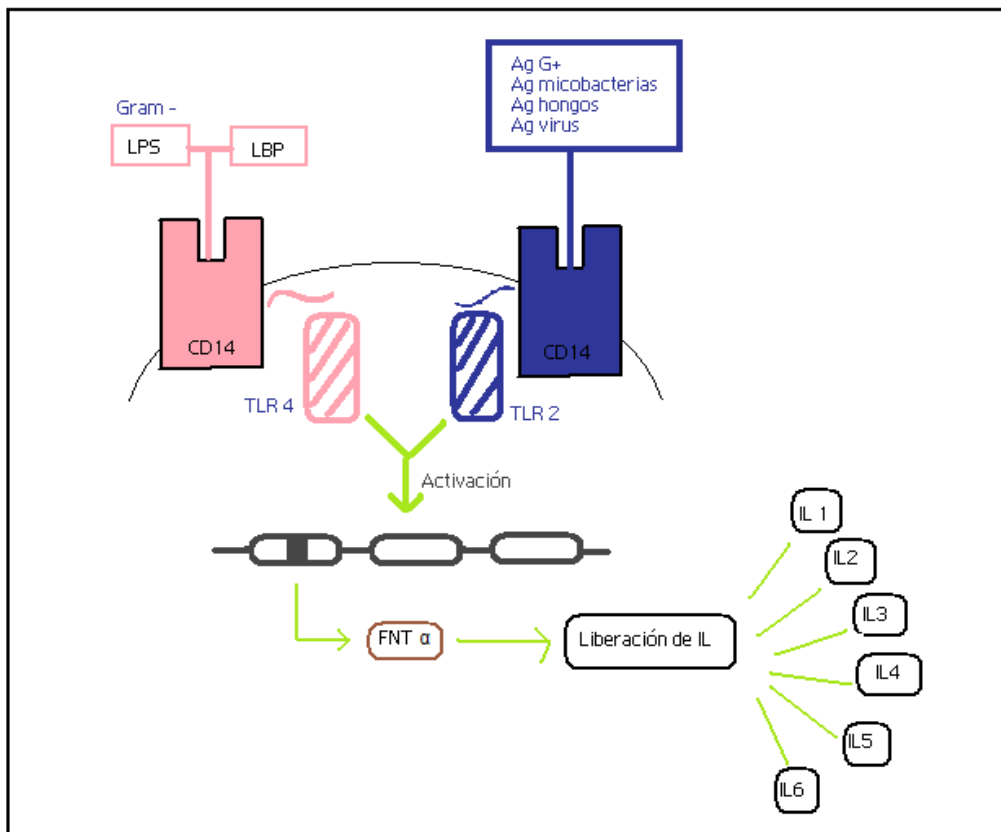


Figura 1.2. Mecanismo de inicio de la sepsis

Dichas citocinas van a influir en la regulación de la temperatura, en la modificación de la permeabilidad vascular, en la función cardíaca y en la acción de numerosas enzimas (lactatodeshidrogenasa y lipoproteínlipasas), que van a modificar el consumo de energía en los tejidos. Esto sustenta la idea de que son los mediadores los que producen los efectos de la sepsis y no los antígenos de los microorganismos [27].

Ante un SRIS descontrolado, con la intervención de los mediadores correspondientes, se va a producir la activación de la cascada de la inflamación, así como la cascada de la coagulación. Todo ello va a ocasionar una lesión del endotelio vascular, que puede llevar asociada una

coagulación intravascular diseminada, con la consecuente alteración de la perfusión tisular, fallo orgánico e incluso la muerte.

La alteración del endotelio, producida por un incremento de permeabilidad capilar y por una alteración de la adhesión leucocitaria se ve influida por diferentes moléculas:

- Selectinas o moléculas de adhesión leucocitaria endotelial (ELAM), responsables de la adherencia inicial y diapedesis intravascular de leucocitos.
- Integrinas CD11a/CD18 y CD11b/CD18, que son las responsables de la migración transendotelial de los neutrófilos.
- Moléculas de adhesión intercelular (ICAM) y moléculas de adhesión de la célula vascular (VCAM).

Se genera una vasodilatación periférica, debida al óxido nítrico que es liberado por parte de las células endoteliales. En consecuencia, se origina una modificación de la coagulación, impulsando acciones procoagulantes y antifibrinolíticas, llegando a producir coagulación intravascular diseminada [28].

Aparte de lo ya mencionado, influyen en la respuesta inflamatoria a la sepsis los siguientes mecanismos:

- Activación de la cadena de proteínas plasmáticas.
- Activación del sistema del complemento, con adhesión y degranulación de los neutrófilos y producción de radicales libres.
- En cuanto a la coagulación (ver la Figura 1.3):
 - Aumento de la expresión del factor tisular (FT) e inicio de la vía extrínseca de la coagulación generando trombina.
 - Disminución de sustancias anticoagulantes, como la antitrombina III y proteína C activada. Disminución de la capacidad fibrinolítica por acción directa del TNF e IL-1, al reducir ambos la actividad del activador tisular del plasminógeno (TPA), y estimulando la expresión endotelial del inhibidor 1 del plasminógeno activado

(PAI-1) y del inhibidor de la fibrinólisis activado por la trombina (TAFI).

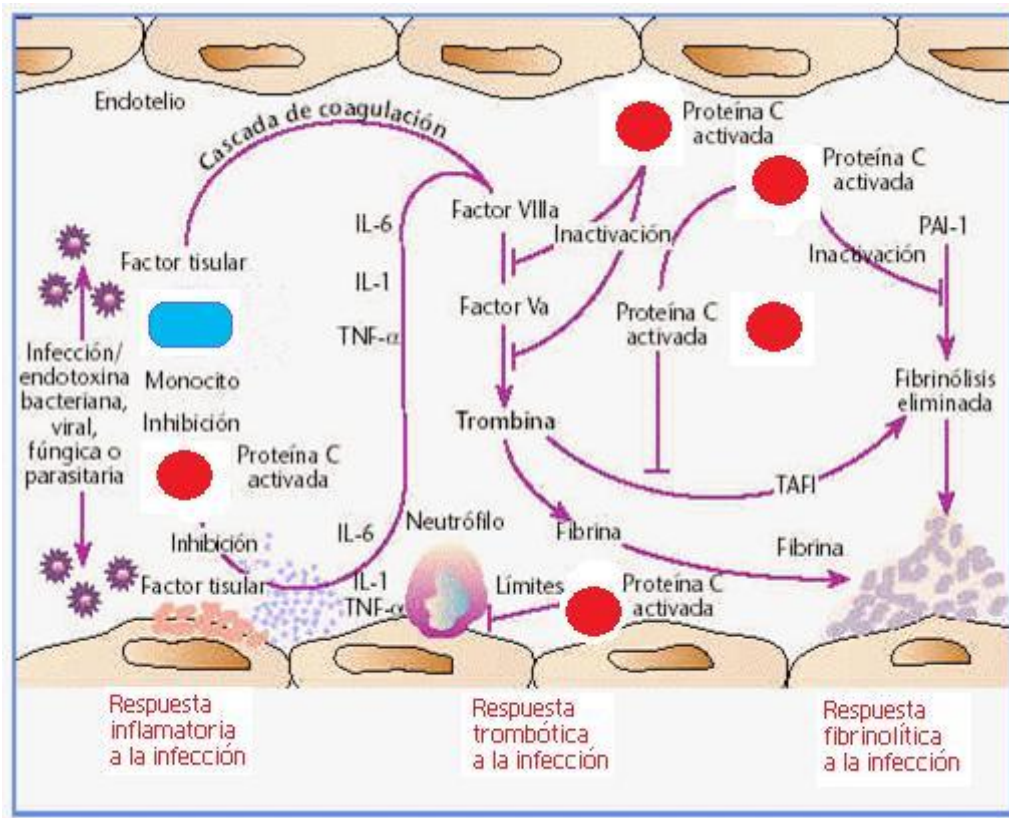


Figura 1.3. Coagulación en sepsis

- Se activan mediadores lipídicos:
 - Factor activador de las plaquetas (PAF): Potente vasodilatador, aunque en el lecho vascular pulmonar, renal y coronario provoca vasoconstricción. Incrementa la permeabilidad vascular, estimula la adhesividad y la activación plaquetaria y de los neutrófilos y su degranulación, con la liberación consiguiente de leucotrienos y producción de superóxido.
 - Eicosanoides: Prostaglandinas (PGE), tromboxanos (TXA) y leucotrienos. Actúan en diferentes órganos.
 - PGE2 es un potente vasodilatador que contribuye a los fenómenos hipotensivos de la sepsis.

- TXA2 es un potente vasoconstrictor a nivel pulmonar, al mismo tiempo que potencia la agregación plaquetaria y la formación de microtrombos [3].
- Activación de la vía del óxido nítrico (NO), que está implicado en la hipotensión y en la depresión miocárdica propia de la sepsis [26].
- Producción de radicales libres (RLO) por la degranulación de los neutrófilos y por metabolismo de los eicosanoides. Los RLO actúan:
 - Lesionando la membrana celular por degradación de los lípidos y proteínas (incluyendo el ADN).
 - Alterando la morfología eritrocitaria, perjudicando así a la circulación y aumentando el déficit titular de perfusión.
 - Aumentando la permeabilidad del endotelio que contribuye al edema.

En resumen, las principales modificaciones fisiopatológicas que se producen en la sepsis son, por un lado, un estado de vasodilatación persistente, con incremento en la permeabilidad de los capilares sistémicos, desarrollo progresivo de disfunción miocárdica, cambio en el transporte, extracción y utilización del oxígeno a nivel tisular y alteración de la coagulación con tendencia procoagulante.

Se ha visto que la respuesta generada ante una infección grave varía en función de diferentes factores. Se han registrado polimorfismos genéticos, que podrían explicar la variabilidad interpersonal de dicha respuesta ante infecciones similares [5].

1.3 RESEÑA HISTÓRICA

La palabra infección (invasión y desarrollo de un parásito dentro del cuerpo) viene del latín infectio, compuesta de un prefijo in-, que indica una acción hacia dentro; del verbo facere, cuya raíz cambia a -fec- por apofonía y de un sufijo -tio (-ción) que indica acción y afecto.

La palabra sepsis procede del griego “σηψις”, referido a la “descomposición de animales, vegetales o materia orgánica asociada a la presencia de bacterias” [29]. En el contexto médico, el primer uso del término “sepsis” se remonta a aproximadamente 2700 años en los poemas de Homero, en los que sepsis deriva de la forma verbal sepo [σηπω], que significa “pudro” [29]. El filósofo y médico griego Hipócrates fue quien probablemente describió el curso clínico del shock séptico “cuando la fiebre continua persiste es peligrosa si las partes externas del cuerpo se mantienen frías, pero las partes internas están ardiendo”. Con el mismo significado también usaron el término sepsis [σηψις] otros autores como Aristóteles, Plutarco y Galeno; éste último, junto con Celso, describieron los cinco signos característicos de la inflamación aguda: dolor, vasodilatación periférica (rubor), fiebre (calor), incremento de la permeabilidad capilar (tumor) y disfunción orgánica (functio laesa).

Ignaz Semmelweis, médico obstetra en Viena, fue el primer investigador que desarrolló una visión moderna de la sepsis al observar el incremento de la incidencia de la fiebre puerperal en mujeres atendidas por estudiantes que previamente habían realizado autopsias, y propuso la instauración de una política de antisepsia que se basaba en el lavado de manos, causando un descenso significativo de la mortalidad por fiebre puerperal [30]. Este probablemente representa el primer estudio clínico realizado en el ámbito de las enfermedades infecciosas. En la segunda mitad del siglo XIX, la teoría de los microorganismos o gérmenes fue confirmada por Robert Koch y Louis Pasteur, que en 1879 anunció en la Academia Francesa que el estreptococo causaba la sepsis puerperal.

En el año 1914, Hugo Schottmüller propuso la primera definición científica de sepsis, definiéndola como “un estado causado por la invasión bacteriana desde un foco infeccioso local al torrente sanguíneo, que lleva a la aparición de signos de enfermedad sistémica en órganos remotos” [31]. De acuerdo a esta definición, la bacteriemia era una condición sine qua non para el diagnóstico de sepsis, de ahí que ambos términos hayan sido utilizados de forma intercambiable durante mucho tiempo.

El concepto moderno de sepsis se ha centrado en la respuesta del organismo a la infección. William Osler fue el primero en reconocer el

papel de la respuesta del organismo en la sepsis y en 1904 citó: *“Excepto en escasas ocasiones, parece que el paciente muere de la respuesta de su cuerpo a la infección, en vez de morir por la infección misma”*. Esta visión representa la piedra angular del entendimiento moderno del papel que juega en la sepsis la respuesta del hospedador ante una infección. En 1989 Roger C. Bone definió la sepsis como *“la invasión de microorganismos y/o sus toxinas en el torrente sanguíneo, junto con la reacción del organismo contra esta invasión”*. Y fue éste el paso previo a todo el conocimiento que se tiene hoy en día sobre la infección-sepsis.

1.4 SITUACIÓN ACTUAL

Las enfermedades infecciosas constituyen un grave problema de salud en el mundo, asociándose con una elevada morbilidad y mortalidad en todos los ámbitos de la asistencia sanitaria, incluidos los SUH [32].

En un reciente estudio descriptivo y multicéntrico realizado en nuestro país, que ha valorado la evolución en los últimos años de las enfermedades infecciosas, así como el perfil y el manejo de los pacientes con clínica de infección en los SUH, la prevalencia de las enfermedades infecciosas fue de un 14,3%, siendo los focos principales de infección el tracto respiratorio y urinario. Respecto a la severidad de la infección, un 6,2% cumplieron los criterios clínicos para sepsis, un 1,2% de sepsis grave y un 0,7% de shock séptico, en el momento de la valoración en el SUH de acuerdo a la definición Sepsis-2. Las infecciones más comúnmente asociadas con la presencia de sepsis fueron las neurológicas y la infección intrabdominal [33]. Precisamente la sepsis en sus formas más severas presenta una elevada mortalidad, y, a pesar de que los estudios, principalmente realizados en el contexto del paciente crítico, revelan un descenso de la tasa de letalidad, la incidencia de sepsis y la mortalidad de ésta expresada en número de casos sigue en aumento [34] [35]. Esto puede explicarse debido al aumento de la esperanza de vida, la mayor supervivencia de pacientes con enfermedad neoplásica, o el mayor número de sujetos sometidos a tratamiento con inmunosupresores o terapias biológicas, factores todos ellos que condicionan un aumento de la susceptibilidad a la infección [36].

Existe en la actualidad suficiente evidencia científica para afirmar que la aplicación precoz de una serie de medidas diagnóstico terapéuticas, entre las que se incluyen la terapia antibiótica y el soporte hemodinámico adecuado, mejoran de forma significativa la supervivencia. También existe el conocimiento de que el seguimiento de estas medidas tiene un cumplimiento escaso en todos los entornos hospitalarios. La sepsis forma parte del grupo de enfermedades tiempo dependiente, entendiendo como tales aquellas en las que el retraso diagnóstico terapéutico influyen negativamente en la evolución del proceso y por tanto son entidades de especial interés para las áreas de urgencias, en las cuales una actuación adecuada puede modificar sustancialmente el pronóstico del paciente.

Aunque la verdadera incidencia de la sepsis en los SUH no ha sido claramente establecida, la información epidemiológica disponible nos dice que el 30-40% de las sepsis que recibe una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) procede de Urgencias. Precisamente con la finalidad de disminuir la mortalidad asociada a la sepsis nació la SSC, en la que se establecieron una serie de pautas de actuación clínica que han sido actualizadas en versiones posteriores [37] y que en España se plasmaron en un documento de consenso denominado “Código sepsis” en el 2010 [8], que probablemente requiera de una actualización dada la publicación de la nueva definición de sepsis y la aparición de estudios que cuestionan la estrategia *Early goal-directed therapy* (EGDT), recogida en dichos documentos.

Por otro lado, es importante reseñar la trascendencia a nivel económico de la patología infecciosa. En el estudio de Martínez Ortiz de Zárate y cols. el 32,6% de los pacientes atendidos por sospecha de infección requirieron ingreso hospitalario. Además la infección implica el consumo de recursos asistenciales y así, en el estudio anterior hasta al 44% de los pacientes incluidos se les solicitaron pruebas microbiológicas, fundamentalmente hemocultivos y urocultivos, para confirmar la sospecha inicial de infección [33].

Una de las principales limitaciones de la nueva definición de sepsis es la ausencia de criterios clínicos o de otro tipo para establecer la sospecha y diagnóstico de infección, así autores como Vincent cuestionan que el score qSOFA reemplace a los criterios de SRIS para la detección de la sepsis [12],

e indican la necesidad de validar su uso como signo de alarma teniendo además siempre en mente que esta escala no es específica para sepsis y que pacientes con otras muchas condiciones incluyendo insuficiencia cardíaca severa, hemorragia, embolismo pulmonar y cualquier forma de fallo circulatorio agudo puede acompañarse de hipotensión, estado mental alterado e hiperventilación. Esta opinión no es compartida por otros autores [38].

Por lo tanto, la sospecha de infección sigue basándose en tres tipos de información [39], tal y como se muestra en la Figura 1.4.

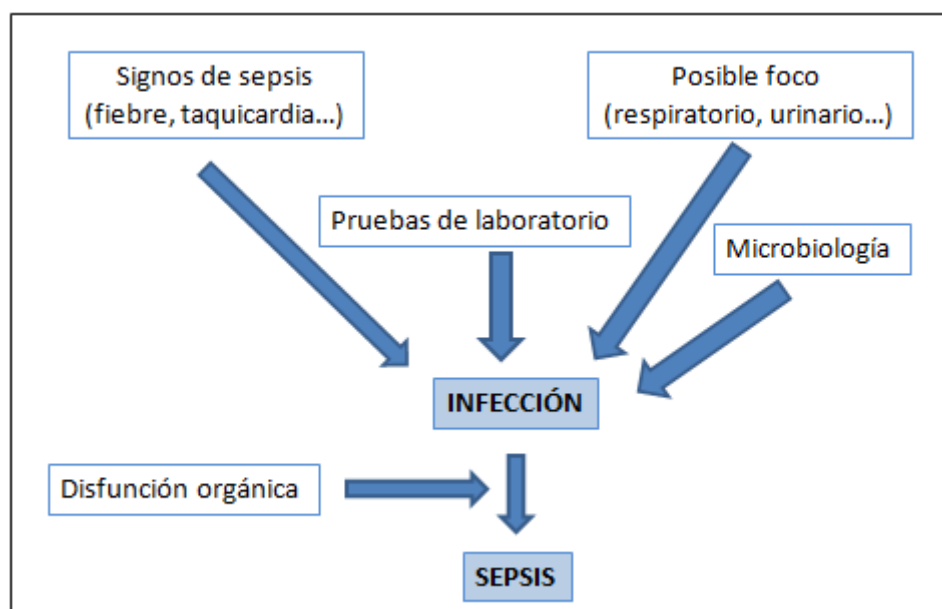


Figura 1.4. Diagnóstico de sepsis desde la infección

- El inicio de los signos y síntomas clínicos de una respuesta del huésped: la fiebre y los escalofríos son la reacción clínica más típica. La respuesta biológica se caracteriza por un aumento (a veces una disminución en los casos graves), tanto en el recuento de leucocitos como en las concentraciones de marcadores inflamatorios, por ejemplo la PCR o PCT.
- La presencia de signos de infección, por ejemplo, disuria, orina maloliente; síntomas respiratorios con auscultación torácica

anormal e infiltrados pulmonares típicos; heridas purulentas; signos de meningitis.

- Invasión microbiológicamente probada de una zona estéril: derivación peritoneal positiva en un paciente cirrótico o signos de sobreinfección en un ambiente no estéril (gastroenteritis) son buenos ejemplos.

Sin embargo, no todos estos elementos característicos aparecen siempre, especialmente en poblaciones de alto riesgo, como los pacientes inmunocomprometidos y el anciano, en los que la infección constituye uno de las causas más frecuentes de consulta e ingreso en los SUH [40]. El estudio de Martínez de Zárate y cols. [33] documentó que casi un 40% de los pacientes atendidos por sospecha de infección tenían más de 65 años, y además, en comparación con la década previa, se halló un incremento de la prevalencia de las infecciones y un perfil de paciente de edad más avanzada y con mayor grado de comorbilidad y número de factores de riesgo para la selección de microorganismos multirresistentes. Además de la edad, asociada a una mayor vulnerabilidad a la infección, otros factores como la mayor frecuencia de enfermedades crónicas, polifarmacia, instrumentación, dispositivos y contacto con el sistema hospitalario y las residencias contribuyen a una presentación clínica más atípica, una mayor presencia de microorganismos no habituales y un riesgo incrementado de retraso en el diagnóstico e inadecuación del tratamiento, y por tanto un peor pronóstico a corto plazo [41].

Respecto a la microbiología, las propias características de estas pruebas suponen una limitación para un diagnóstico rápido, porque la obtención de resultados no es inmediata. Además, estas pruebas pueden estar condicionadas por la toma previa de antibióticos; así, en el estudio de Martínez Zarate y cols. el 9% de los pacientes había tomado un tratamiento antibiótico antes de ser evaluados en los SUH. Por todo ello, la disponibilidad de otras herramientas, como los marcadores bioquímicos, probablemente en combinación con criterios clínicos, es esencial en la toma de decisiones ante este tipo de pacientes, al tratarse la sepsis de una patología tiempo-dependiente y en la que la rápida identificación del proceso, la administración de la terapia antibiótica adecuada, así como la

categorización de la severidad como base para la toma de decisiones diagnóstico-terapéuticas, son necesarias en el manejo de esta patología, de manera que los retrasos en la administración de los antibióticos o de otras medidas terapéuticas puede modificar sustancialmente el pronóstico de los pacientes [7].

En conclusión, y a pesar de los progresos en la identificación y tratamiento del paciente con infección, el incremento de la incidencia de la misma implica que el número de pacientes que muere cada año continúa elevándose. Por ello, la mortalidad asociada a la infección sigue siendo una prioridad para los clínicos.

1.5 BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN-SEPSIS

En este apartado se pretende realizar una revisión de algunos biomarcadores relacionados con el diagnóstico y manejo de infección-sepsis.

1.5.1 Definición de biomarcador

Un producto sanitario para el diagnóstico *in vitro* es cualquier producto sanitario que consista en un reactivo, producto reactivo, calibrador, material de control, estuche de instrumental y materiales, instrumento, aparato, equipo o sistema, utilizado solo o en asociación con otros, destinado por el fabricante a ser utilizado *in vitro* para el estudio de muestras procedentes del cuerpo humano, incluidas las donaciones de sangre y tejidos, sólo o principalmente con el fin de proporcionar información: relativa a un estado fisiológico o patológico, o relativa a una anomalía congénita, o para determinar la seguridad y compatibilidad con receptores potenciales, o para supervisar medidas terapéuticas [42].

Se define como biomarcador a aquella molécula medible en una muestra biológica de forma objetiva, sistemática y precisa, cuyos niveles se constituyen en indicadores de que un proceso es normal o patológico y sirven para monitorizar la respuesta al tratamiento [43] [44] [45]. El biomarcador debe proporcionar información adicional a la que se obtiene

con los datos clínicos del paciente y ayudar a la hora de tomar decisiones urgentes en los SUH [46].

Al biomarcador ideal, que no existe, se le debería reconocer y exigir capacidad para:

- Establecer un diagnóstico precoz (incluso antes de que se manifiesten los signos y síntomas de una infección bacteriana grave como hipotensión, hiperlactacidemia o disfunción de órganos). Por lo tanto, aumentará la seguridad y acortará el tiempo del diagnóstico clínico de la infección/sepsis, permitiendo el inicio más precoz de las medidas terapéuticas adecuadas [43] [47] [48].
- Cuantificar la gravedad y estratificar el riesgo, identificar a los pacientes con infección/sepsis con la máxima sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo (VPP), y descartar los casos con riesgo de mala evolución (como en el caso de bacteriemia) con la mayor especificidad y valor predictivo negativo (VPN) [44][46].
- Monitorizar la evolución de la infección bacteriana y su respuesta al tratamiento, de forma que sirva de guía para la terapia antibiótica (indicación, cese o cambio del antibiótico) [46][49].

Por otro lado, Vincent, nos muestra cómo debe ser utilizado un biomarcador para responder a preguntas clínicamente importantes [39]. Se explica en la Tabla 1.6.

Tabla 1.6. *Cómo se puede utilizar un biomarcador, cuyos niveles aumentan en sepsis, para responder a preguntas clínicamente importantes [39]*

Pregunta clínica	Biomarcador de sepsis	
	Aumentan sus niveles o se mantienen elevados	Disminuyen los niveles o son bajos
¿Está el paciente infectado?	<ul style="list-style-type: none"> • El uso de antimicrobianos debería ser considerado • Es necesario buscar el origen de la infección 	<ul style="list-style-type: none"> • El empleo de antimicrobianos puede no ser necesario • Es conveniente buscar causas no infecciosas
¿Está grave el paciente?	<ul style="list-style-type: none"> • Se debe ingresar al paciente en el Hospital o en una UCI 	<ul style="list-style-type: none"> • No es necesario ingresar al paciente
¿Responde al tratamiento?	<ul style="list-style-type: none"> • La terapia antibiótica debe ser reevaluada • Debe evaluarse la posibilidad de necesitar una operación 	<ul style="list-style-type: none"> • El tratamiento es efectivo, debe mantenerse • Sugerir el fin del tratamiento antibiótico.

1.5.2 Biomarcadores

Se han publicado diversos estudios relacionados con la sepsis y los diferentes biomarcadores empleados para su diagnóstico [50] [51] [52]. Numerosos biomarcadores han sido propuestos para ser utilizados en el campo de la sepsis, más que en ninguna otra patología; Quizás esto se deba a la complejidad de la fisiopatología de la sepsis, en la que intervienen numerosos mediadores inflamatorios, además de otros mecanismos fisiopatológicos [53].

Una de las revisiones más recientes y completas es la de Pierrakos y cols. [43], que analizaron todos los estudios realizados hasta el año 2010, incluyendo 3370 artículos con un total de 178 biomarcadores, número que probablemente se haya incrementado en los últimos seis años, con las siguientes conclusiones:

- Numerosos biomarcadores han sido evaluados para su uso potencial en la sepsis, más con finalidad pronóstica que para el diagnóstico.
- Ninguno de los biomarcadores evaluados demostró reunir la suficiente especificidad o sensibilidad para ser empleado rutinariamente en la práctica clínica. Sólo la PCR y la PCT han sido utilizados como herramientas de diagnóstico, pronóstico y monitorización de la infección/sepsis.
- Las combinaciones de varios biomarcadores pueden ser más eficaces que los biomarcadores únicos, pero esto requiere una evaluación adicional.

La utilidad de un biomarcador está condicionada por el contexto en el que aquel va a ser utilizado [54]. Aunque los biomarcadores han demostrado ser útiles en diferentes aspectos relacionados con el manejo del paciente infectado, en un SUH, en el que el primer reto al que se enfrenta el clínico es la identificación de la infección, dichos biomarcadores son habitualmente más útiles como criterio de exclusión [39]. De este modo, podrían contribuir a reducir el uso innecesario de antibióticos, limitar el uso excesivo de pruebas de imagen para la búsqueda del foco original y forzar al clínico a buscar diagnósticos alternativos [55].

Los biomarcadores PCR y PCT están ampliamente implantados en la práctica clínica, incluso su medición fue recogida en la definición del 2001. Otros marcadores han sido y siguen siendo evaluados para su utilización en el manejo de los pacientes con sospecha de infección que son atendidos en los SUH, como por ejemplo *soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1* (sTREM-1), *soluble urokinase-type plasminogen activator receptor* (suPAR), *pro-adrenomedulina* (pro-ADM) o presepsina [56].

1.5.2.1 Biomarcadores clásicos

Citocinas

Las citocinas, también llamadas citoquinas, son proteínas responsables de la comunicación intercelular, activando receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación

celular, quimiotaxis, etc. Son producidas por diferentes tipos celulares, mayoritariamente los linfocitos y macrófagos activados [57].

Su acción principal consiste en la regulación del mecanismo de la inflamación, ya que hay citocinas pro-inflamatorias y otras de carácter anti-inflamatorio.

Se trata de proteínas de bajo peso molecular, que fueron descubiertas en la década de los 60-70 [58].

Hay más de 100 tipos, cada una de ellas con una acción específica, aunque citocinas diferentes comparten funciones similares. Es difícil clasificarlas, pero se podrían agrupar en 4 grupos funcionales, de acuerdo al sitio o fase específica de la respuesta inmune en la que actúen [59]:

- Citocinas pro-inflamatorias: Actúan en la respuesta inmune innata, inespecífica o inflamación. Son interleucina-1 (IL-1), Factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleucina-8 (IL-8), interleucina-12 (IL-12), interleucina-16 (IL-16) e interferones.
- Citocinas que favorecen el desarrollo de inmunidad celular y/o citotóxica: Interferón gamma (IFN- γ), interleucina-2 (IL-2).
- Citocinas que favorecen la producción de las diversas clases de inmunoglobulinas o inmunidad humoral: interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), interleucina-13 (IL-13), Factor Inhibitorio de Leucemias (LIF), Oncostatin M (OSM)...
- Citocinas con funciones extra-inmunológicas y/u homeostáticas: interleucina-3 (IL-3), factor estimulante de monocitos y granulocitos (GM-CSF), eritropoyetina (EPO)...

Durante la inflamación e infección, los niveles de estas citocinas aumentan en suero, por lo que diferentes estudios han publicado su posible utilidad como biomarcadores para la identificación de la infección/sepsis. Así, por ejemplo, la IL-8 puede identificar infecciones severas en pacientes neutropénicos [60], o la IL-6 elevada sugiere una aparición rápida de un shock séptico [61][62].

Las limitaciones principales de las citocinas son su inespecificidad, ya que su secreción es dependiente del proceso inflamatorio, y su cinética,

dado que la precocidad en alcanzar su concentración máxima limita su uso en la práctica clínica. Tanto el TNF como las IL-1, IL-6, IL-8 e IL-10 tienen una rápida respuesta y alcanzan su máximo nivel a las 2-3 h. [63] (ver la Figura 1.5). Además, estas moléculas tienen poca bioestabilidad y una semivida corta, por lo que podrían escapar fácilmente a una sola determinación, limitando su utilidad en los SUH [46].

En la práctica clínica solo la IL-6 ha tenido cierta implantación en el diagnóstico de la sepsis neonatal tardía [64].

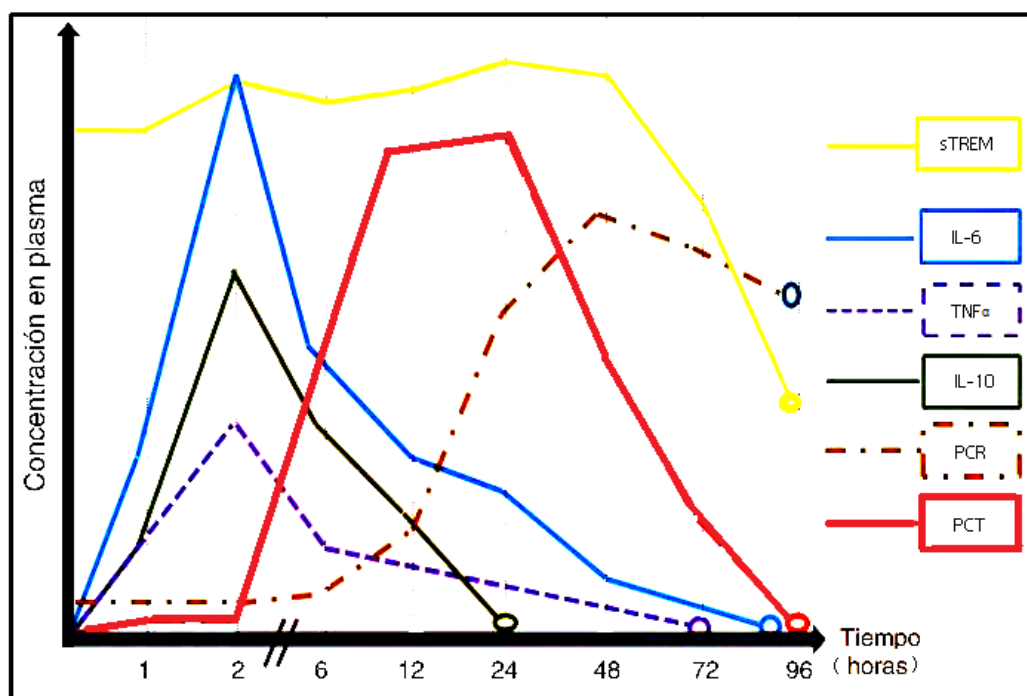


Figura 1.5. Cinética de los biomarcadores de sepsis

PCR (Proteína C Reactiva)

Es una proteína plasmática no glicosilada de síntesis hepática, que se produce en respuesta a un estímulo inflamatorio en el organismo. Pertenecce a la familia de las pentraxinas y está formada por cinco subunidades idénticas unidas por enlaces no covalentes; cada subunidad está formada por 206 aminoácidos [65]. El papel fisiológico de esta proteína podría estar mediado por su unión a la fosfocolina, que está presente en la

superficie de las células muertas y en algunos tipos de bacterias, con la finalidad de activar en el organismo el sistema del complemento, promoviendo una respuesta antiinflamatoria y apoptótica [66][67].

Su mecanismo de acción exacto in vivo no se conoce completamente, pero juega un papel importante en los procesos de defensa no específicos.

Es un importante marcador de fase aguda, formando parte de la respuesta inmunitaria innata. Su concentración puede aumentar hasta 50.000 veces en las 24-48 horas siguientes a la producción del daño tisular, con un inicio de su aumento a las 6 horas (ver la Figura 1.5).

A nivel clínico, la PCR se usa como marcador de inflamación y puede servir para determinar el progreso de una enfermedad o la efectividad de un tratamiento.

Son numerosas las limitaciones de la PCR como marcador de infección/sepsis:

- Las concentraciones varían según la edad y el estado fisiológico [68] (ver la
- Tabla 1.7).
- Se trata de un marcador con especificidad limitada, ya que hay pacientes no infectados con valores de PCR muy elevados, como en el caso del paciente crítico [69].
- Su cinética es más variable y lenta que la de la PCT (hasta 24 horas después) [70], pudiendo estar elevada incluso cuando la infección está remitiendo [46].

A pesar de sus limitaciones, y probablemente por motivos más relacionados con la tradición que con la medicina basada en la evidencia, sigue siendo un marcador ampliamente utilizado en nuestro país, como demuestra el estudio de Salinas y cols [71].

Tabla 1.7. Concentraciones de PCR según edad y estado fisiológico

Situación	Niveles séricos (mg/L)
• Adultos sanos	<1
• Vejez	<2
• Embarazadas	
• Inflamación leve	1-4
• Infecciones virales	
• Inflamación activa	4-20
• Infección bacteriana	
• Infecciones bacterianas severas	>20
• Quemaduras	
• Sepsis	>50

PCT (Procalcitonina)

La PCT es un péptido de 116 aminoácidos, precursor de la calcitonina, hormona que está relacionada con la regulación del metabolismo cálcico. (Ver la Figura 1.6).

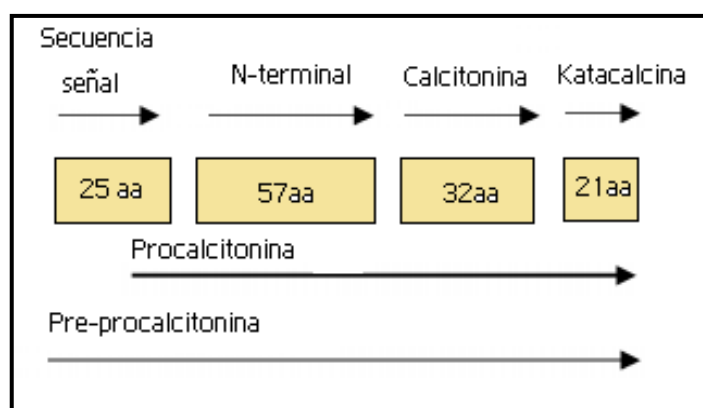


Figura 1.6. Estructura de la PCT

Procede del gen CALC-I que da lugar al calcitonin gene related peptide (CGRP) en las células del sistema nervioso central y a la pre-procalcitonina en las células C del tejido tiroideo. Dicha pro hormona procede

de la escisión de la pre-pro hormona en condiciones normales, en las células C de la glándula tiroides, que dará lugar a la hormona activa finalmente. Sin embargo, en las infecciones severas existe una síntesis en tejidos extratiroides, generalmente en el sistema mononuclear fagocítico [72].

El proceso de secreción de la PCT se muestra en la Figura 1.7 [73].

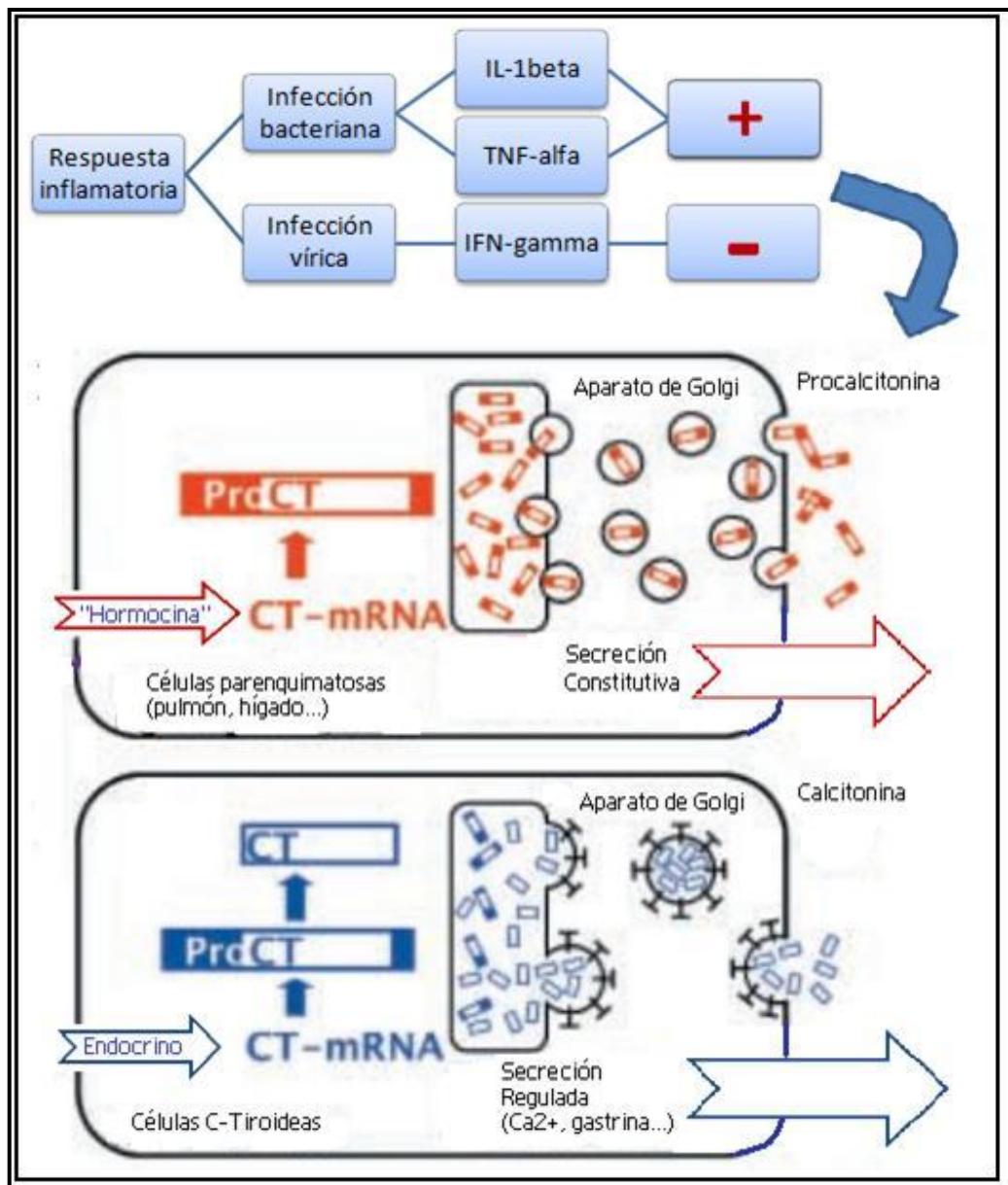


Figura 1.7. Proceso de liberación de la PCT

Una de las principales ventajas de este marcador es su cinética, que permite una identificación más precoz del paciente infectado. Es rápida, con una respuesta inicial al estímulo de unas 2-6 h, con niveles máximos a las 8 h, que se mantienen estables hasta las 24 h y descienden hasta valores normales en 72-96 h [63], tal y como se observa en la Figura 1.5. La molécula es muy estable tanto *in vitro* como *in vivo*.

Algunos estudios describen la PCT como un marcador de alta especificidad para infección [74] y sepsis [75] [76]. Se ha descrito que el incremento de su concentración en sangre apoya el diagnóstico diferencial de etiología bacteriana [77] y es indicativo de la severidad de la enfermedad [78].

Tabla 1.8. Causas de falsos positivos y negativos de la PCT

Falsos positivos	Falsos negativos
<ul style="list-style-type: none"> • Los recién nacidos (fisiológicamente) los primeros días de vida • Síndrome de distress respiratorio • Infecciones agudas por <i>Plasmodium falciparum</i>. • Infecciones micóticas sistémicas (candidiasis, aspergilosis...) • Traumatismos mecánicos graves • Traumatismos quirúrgicos • Administración de anticuerpos monoclonales o policlonales antitiroglobulina • Rechazo de trasplantes • Neumonitis química • Quemaduras graves y golpes de calor • Pacientes con cáncer medular de tiroides, de pulmón de células pequeñas, o tumores con producción de hormonas paraneoplásicas • Fiebre mediterránea familiar (elevada producción de citoquinas) • Tratamiento del melanoma con TNFα 	<ul style="list-style-type: none"> • Curso temprano de la infección • Infecciones localizadas • Endocarditis subaguda

La función exacta de este biomarcador es todavía objeto de estudio en las fases de sepsis e infección, planteándose diferentes hipótesis, como si

actúa en el metabolismo fosfocálcico, aunque se apuesta más por su posible intervención en la síntesis del óxido nítrico, que es el responsable de la hipotensión que aparece durante la sepsis [79].

Sin embargo, la PCT también presenta limitaciones. En la Tabla 1.8 se describen las principales causas de falsos positivos y falsos negativos descritos en la literatura [54].

Existen cinco tipos de ensayos de medida, cuatro cuantitativos (inmunoluminométrico, inmunofluorescente, electroquimioluminiscencia e inmunturbidimetría) y otro semicuantitativo (inmunocromatografía).

1.5.5.2 Biomarcadores emergentes

Aunque son muy numerosos los biomarcadores evaluados con fines diagnósticos y pronósticos en el contexto de la infección/sepsis, a continuación describo aquellos de los que se dispone ya de métodos automatizados que facilitan su introducción en la práctica clínica.

Presepsina (sCD14-ST)

Se trata de una glicoproteína, presente en la membrana de los macrófagos, monocitos, neutrófilos, condrocitos, células B, células dendríticas, fibroblastos gingivales, queratinocitos humanos y líneas de células epiteliales intestinales.

Sirve como receptor específico de alta afinidad para los LPS, presentes en la pared celular de las bacterias G-, y otros productos bacterianos, como los peptidoglucanos de las G+. Tal y como se muestra en la figura 8, el complejo LPS-LBP se une al receptor CD14 y activa al receptor TLR4, con la consecuente liberación de citocinas e interleucinas que provocan la cascada inflamatoria contra los agentes infecciosos. El complejo LPS-LBP-CD14 se libera a la circulación sanguínea, y por acción de ciertas enzimas se separa el CD14 del resto del complejo, generándose el sCD14, que es el fragmento soluble del CD14. Este fragmento, por acción de proteasas, se fracciona, dando lugar al sCD14-ST (sCD14 subtipo), que se conoce como presepsina [80].

La presepsina es el fragmento N-terminal de 13KDa de la glicoproteína CD14, y está formada por 64 aminoácidos [81].

En la Figura 1.8 se muestra el proceso de activación y traducción de la presepsina

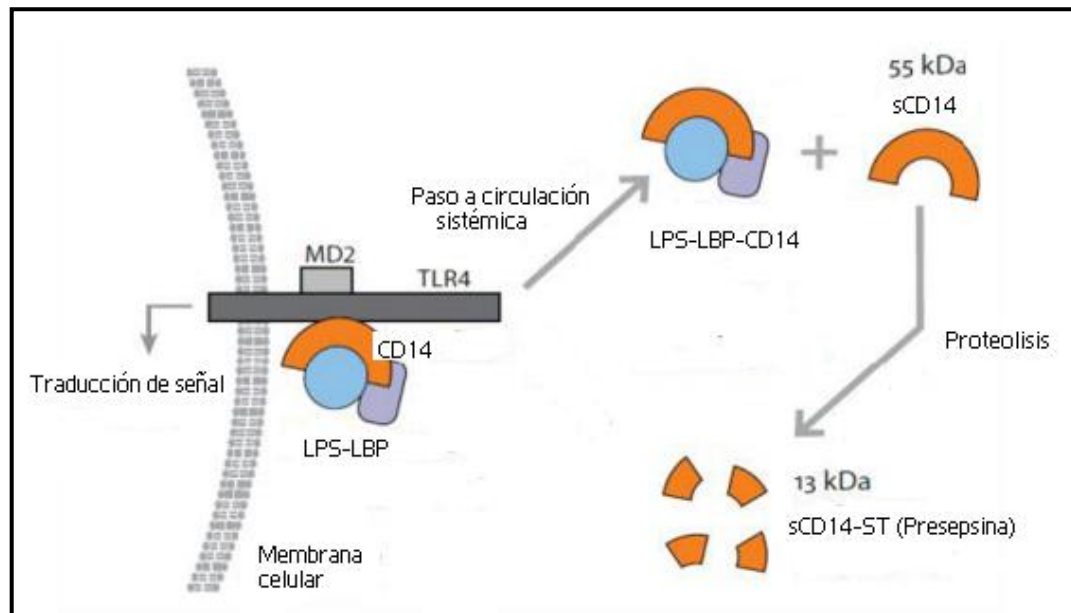


Figura 1.8. Activación de la presepsina

Diversos estudios sugieren una correlación significativa entre las puntuaciones de APACHE II (*Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II*), índice de severidad de la enfermedad y valores de presepsina, cuyos puntos de corte preliminares los sitúan según la Tabla 1.9 [82][83].

Tabla 1.9. Valores de corte de la presepsina

Punto de corte	Severidad de la enfermedad
<200 pg/mL	Exclusión de sepsis e infección
<300 pg/mL	Exclusión de sepsis severa o shock séptico
>300 pg/mL	Posible sepsis
>1000 pg/mL	Alta probabilidad de sepsis severa o shock séptico.

Tiene una cinética de inicio al estímulo a las 2 h, con incrementos con cierta lentitud y el pico se presenta a las 24 h.

Este biomarcador inicialmente se medía por un método inmunoensayo, pero esto requería un pretratamiento de la muestra que duraba entre 5-6 horas, lo que impedía dar un resultado rápido al clínico en los Servicios de Urgencias. Actualmente se ha optimizado la técnica y se mide mediante el analizador Pathfast, que es un sistema de inmunoanálisis de quimioluminiscencia rápido (15 minutos), que utiliza sangre entera o plasma (EDTA o heparina) [84][85] y permite su uso en la cabecera de paciente.

El papel de la presepsina como marcador diagnóstico de infección/sepsis en el contexto del paciente con sospecha de infección atendido en un SU es en la actualidad controvertido, con estudios que muestran resultados contradictorios respecto a sus posibles ventajas en comparación a la PCT.

MR-Proadrenomedulina (Pro-AMP)

La adrenomedulina (ADM) es un péptido de 52 aminoácidos, que forma un anillo de 6 residuos aminoacídicos y una tirosina C-terminal [86]. Tiene actividad inmunomoduladora, metabólica y vasodilatadora y fue aislada inicialmente en biopsias de feocromocitomas humanos.

Forma parte de la superfamilia de los péptidos de la calcitonina, ya que comparte un gen común, por lo que su estructura es similar. El gen de la ADM se localiza en el brazo corto del cromosoma 11. El precursor de la ADM es la pre-pro-ADM, con 185 aminoácidos, y mediante su escisión se genera un péptido de 164 aminoácidos que es la pro-ADM. A su vez, éste péptido genera dos péptidos activos, la ADM y el péptido N-terminal de la proadrenomedulina (PAMP) y una región medial sin actividad biológica, que se conoce como la región medial de la pro-ADM (MR-pro-ADM) [87] y es la que se cuantifica en plasma; Se describe en la Figura 1.9 [88].

En contraste con lo que se pensaba inicialmente, el gen de la ADM se localiza en numerosos tejidos como el pulmonar, renal, cardíaco, adiposo y neuronal. La síntesis de esta molécula está estimulada por la presencia de

citoquinas inflamatorias, toxinas bacterianas, hormonas y factores de crecimiento [89].

El mecanismo de acción de la ADM consiste en su unión al receptor de membrana del tejido correspondiente, activando una cascada de segundos mensajeros.

Ya que se trata de un marcador de amplia distribución tisular, sus niveles aumentan en numerosos procesos patológicos, como alteraciones cardíacas (infartos, enfermedades cerebrovasculares, hipertensión), pulmonares (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma), renales (insuficiencia renal, glomerulonefritis) y tumorales, entre otros [88]. Pero también se eleva en procesos infecciosos independientemente de la etiología de origen (bacteriana, viral o fúngica), siendo en dichos procesos en los que se han descrito niveles más altos de ADM.

Sin embargo, su corta vida media (unos 22 minutos) [90], y los métodos disponibles para su medición (técnicas de radioinmunoensayo), limitan su posible utilidad como biomarcador en un laboratorio de urgencias [91].

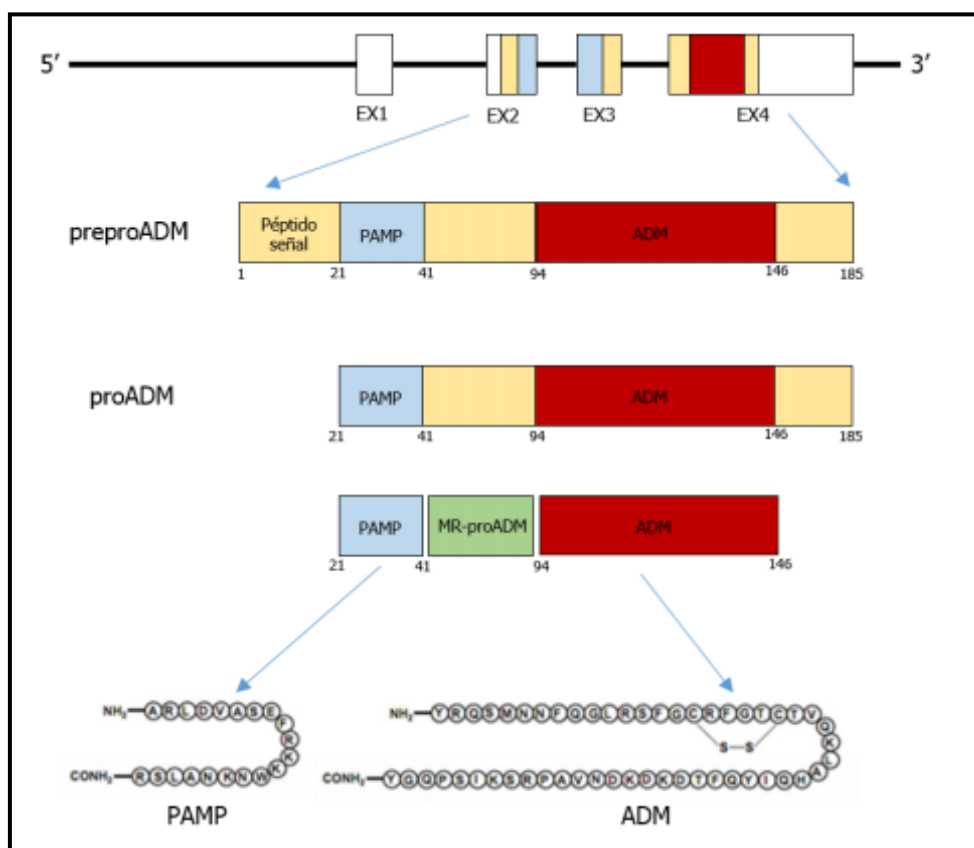


Figura 1.9. Fracciones de ADM

Años después se ha identificado la MR-pro-ADM, que es la fracción medial del precursor de la ADM, que no tiene función biológica conocida, pero se excreta en relación 1/1 con la ADM, lo que, junto con su mayor estabilidad en suero, hace más útil esta fracción para su uso en la práctica clínica.

La medida de pro-ADM presenta una excelente correlación con la gravedad de la enfermedad, con el riesgo de desarrollar complicaciones adversas y con la mortalidad a corto y medio plazo por infecciones en el tracto respiratorio inferior, incluyendo una de las causas principales de consulta en los SUH, la neumonía adquirida en la comunidad (NAC), especialmente cuando se combina con escalas de evaluación del riesgo, como el índice de gravedad de neumonía (PSI) y CURB-65 para la NAC [92][93].

Más recientemente la medida al ingreso y seriada de MR-proADM ha demostrado su utilidad en el paciente crítico con SG y SS para el diagnóstico de sepsis y como predictor de mortalidad en pacientes con sepsis grave, mejorando incluso el rendimiento de la PCT [94] [95].

1.5.5.3. Biomarcadores emergentes objeto de este estudio

Entre los nuevos biomarcadores emergentes se encuentran la PSP (Pancreatic Stone Protein) y el sCD25 (CD25 soluble). Son marcadores biológicos de nueva aparición, que en estudios realizados en los últimos años han demostrado su utilidad en el diagnóstico y pronóstico de la sepsis en el contexto de los Cuidados Intensivos [108],[109],[110],[111]. Sin embargo, el comportamiento de los biomarcadores varía en función del contexto en el que estos son utilizados [112], siendo necesario demostrar que la utilidad descrita en el paciente crítico es trasladable a otros contextos como los SUH o la planta de Hospitalización.

Pancreatic Stone Protein (PSP)

También es conocida como Proteína Regeneradora 1-alfa (PSP/reg) o litostatina. Se trata de un polipéptido de 16kDa, que pertenece a la familia de las proteínas de unión a la lecitina [113] y es secretado por las células acinares pancreáticas y las células Paneth intestinales en respuesta al

estímulo de citocinas [114]. Aunque su función exacta no está aún definida [115], parece tener funciones protectoras mediante la promoción de las respuestas proliferativas celulares durante los procesos de regeneración de las células beta y la reparación epitelial [116], interviniendo también como inhibidor de la precipitación del carbonato cálcico en el jugo pancreático [117], evitando así los cálculos a este nivel.

Se ha visto que aumenta en los casos de pancreatitis aguda y crónica, insuficiencia renal crónica, procesos gastrointestinales malignos [118], (109), y también en aquellos procesos patológicos traumáticos que desarrollan sepsis [111], participando de esta manera en la predicción de la misma y de la asociada a fallo orgánico [119].

CD25 soluble (sCD25)

El sCD25 se sabe que se genera como resultado de la escisión proteolítica a partir de las células T activadas. CD25 es la cadena alfa del receptor de IL-2, y el sCD25 es una parte de esta molécula, pero más estable, con mayor vida media y por lo tanto más recomendable para su cuantificación. Este proceso se muestra en la Figura 1.10.

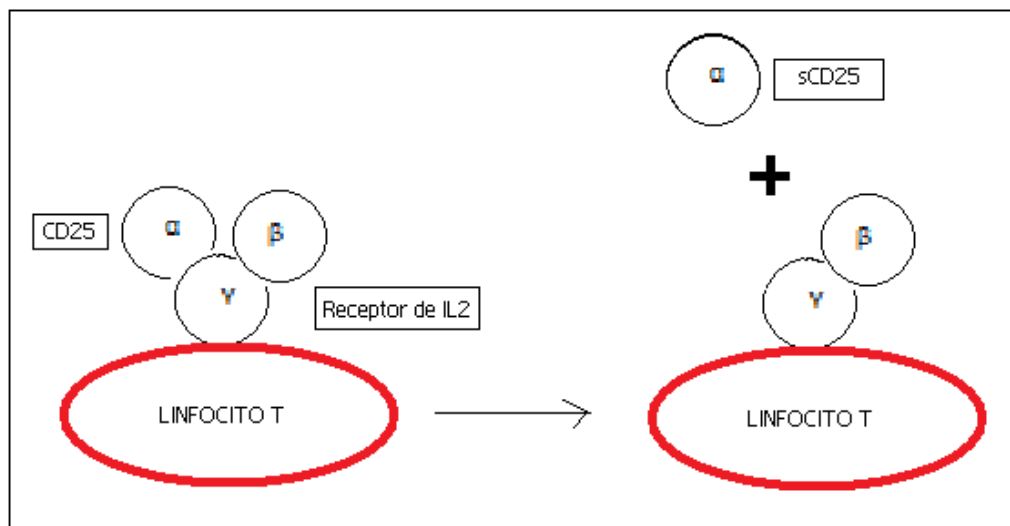


Figura 1.10. Proceso de escisión del sCD25

Se expresa constitutivamente en las células T reguladoras, y también sobre las células T efectoras después de su activación, pudiendo reflejar el desarrollo de una respuesta regulatoria compensatoria [120]. Se ha utilizado ampliamente como biomarcador que refleja las enfermedades inflamatorias y tumores caracterizados por la expansión de las células T [121], pero aún se desconoce si estos niveles aumentados desempeñan un papel directo en estas patologías [122].

Por otro lado, se ha visto que este marcador está presente en procesos infecciosos de carácter séptico [123].

2. HIPÓTESIS

2. HIPÓTESIS

Las enfermedades infecciosas constituyen un grave problema de salud pública a nivel mundial. Su incidencia ha aumentado progresivamente debido a factores como el aumento de la esperanza de vida, la mayor supervivencia de pacientes con enfermedad neoplásica, o el mayor número de sujetos sometidos a tratamiento con inmunosupresores o terapias biológicas. Además, la sepsis asociada a la infección presenta una elevada morbilidad y mortalidad en todos los ámbitos de la asistencia sanitaria, incluyendo los SUH, en los que la identificación y el inicio de medidas terapéuticas de la forma más precoz posible condicionan la supervivencia del paciente.

La definición de sepsis se ha modificado con el tiempo, con hasta tres definiciones en los últimos 25 años, sirviéndose de los avances en el conocimiento de su fisiopatología, que han permitido completar los aspectos controvertidos que dicha definición tenía en sus inicios y contribuido a mejorar el manejo de la misma.

Aunque numerosos estudios han evaluado la utilidad diagnóstica y pronóstica de múltiples moléculas en el contexto de la infección/sepsis, sólo dos son ampliamente usadas en la práctica clínica: la PCT y la PCR. Sin embargo, las limitaciones de ambas obligan a un esfuerzo en la búsqueda de nuevos biomarcadores.

En base a los resultados previos descritos para los biomarcadores PSP y sCD25 en el diagnóstico de sepsis en el paciente crítico, nos propusimos valorar su utilidad en el contexto de la Urgencia Hospitalaria, en la que la sospecha de infección es uno de los motivos principales de consulta.

2.1 HIPÓTESIS

La hipótesis principal del trabajo consiste en que la medida aislada de los biomarcadores PSP y sCD25 o su combinación con alguno de los tradicionales disponibles, como la PCT, puede ser una herramienta útil para la detección precoz y el pronóstico de la infección/sepsis en los

Servicios de Urgencias. La confirmación de esta hipótesis atribuiría a dichos marcadores una utilidad en el diagnóstico de dicha patología y su posible inclusión en los protocolos de manejo del paciente con sospecha de infección.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, el objetivo principal de esta memoria experimental es evaluar los nuevos biomarcadores, aislados o en combinación con la procalcitonina en el contexto de la infección en los Servicios de Urgencias.

1. Evaluar el rendimiento de dos biomarcadores de infección emergentes, PSP y sCD25, comparado con el de la PCT, para el diagnóstico de infección en pacientes atendidos en un SUH por sospecha de infección.
2. En pacientes con infección, estudiar el rendimiento de PSP y sCD25 comparado con el de la PCT para el diagnóstico de sepsis.
3. En pacientes con sepsis, analizar la asociación de las concentraciones de PSP, sCD25 y PCT con la severidad de la sepsis.
4. Valorar la influencia del foco de infección en las concentraciones de los biomarcadores estudiados.
5. Evaluar el rendimiento de PSP y sCD25 comparado con el de la PCT para la detección de bacteriemia y valorar la influencia de la etiología en las concentraciones de estos biomarcadores en pacientes con bacteriemia.
6. Analizar el rendimiento de estos biomarcadores como factores predictores de mortalidad hospitalaria en pacientes con infección.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio prospectivo observacional de cohortes y unicéntrico durante un periodo de 3 meses, entre octubre y diciembre de 2013. En él se reclutaron de forma consecutiva pacientes atendidos por sospecha de infección en el Servicio de Urgencias del Hospital Universitario Santa Lucía.

4.2 ÁMBITO DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en el Servicio de Urgencias del Hospital General Universitario Santa Lucía. Dicho Hospital forma parte del Complejo Hospitalario de Cartagena (Área II de Salud del Servicio Murciano de Salud), que atiende una población de 260.000 habitantes de los municipios de Cartagena, Fuente Álamo, La Unión y Mazarrón.

En el 2012, se atendieron en el SUH 102.062 visitas; en este cómputo no se tuvieron en cuenta las urgencias obstétricas ni las urgencias pediátricas. No se dispone del dato relativo a cuántas de estas consultas fueron por sospecha de infección. Extrapolando a partir del dato del estudio INFURG-SEMES [33], en el que un 14.3% de las consultas concluyeron con un diagnóstico de infección, supondría que en nuestro hospital el número de infecciones durante ese año hubiera sido de 14.595.

4.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se incluyeron en el estudio pacientes con edad igual o superior a 14 años, con sospecha de infección, a juicio del clínico responsable de la atención al paciente en el SUH, a los cuales se les realizó una solicitud de hemocultivo y/o de otros fluidos biológicos, a juicio clínico y en base a la sospecha de infección en el momento de la evaluación inicial del paciente. Se excluyeron las mujeres gestantes.

4.4 VARIABLES DE ESTUDIO

A continuación, se muestran las variables analizadas en el estudio.

- Variables demográficas: Edad/Sexo
- Escala de disfunción orgánica: SOFA al ingreso
- Variables relacionadas con la infección:
 - Severidad de la infección: Infección no complicada/Sepsis
 - Severidad de la sepsis: Sepsis/Shock séptico
 - Focos de infección:
 - Urinario
 - Respiratorio
 - Abdominal
 - Piel y partes blandas
 - Sistema nervioso central
 - No filiado
 - Otros
 - Infección documentada microbiológicamente: Sí/No
 - Microorganismo aislado: Bacteria Gram +/Bacteria Gram -/Mixta
- Variables comorbilidades:
 - Cardiopatía
 - Hipertensión arterial (HTA)
 - Enfermedad Renal Crónica (ERC)
 - Diabetes Mellitus (DM)
 - Procesos oncológicos
 - Tratamientos inmunosupresivos
- Biomarcadores de infección:
 - PSP
 - sCD25
 - PCT

4.5 CLASIFICACIÓN DE PACIENTES

La presencia de infección y sepsis fue definida de forma retrospectiva por dos especialistas en Medicina Intensiva mediante el análisis de los datos clínicos, radiológicos y de laboratorio, recogidos en la historia clínica del paciente.

- *Infección documentada*: Una infección se consideró como documentada si en las muestras recogidas en el SUH se obtuvo un cultivo positivo de una bacteria patógena o potencialmente patógena o se demostró su presencia mediante otras pruebas microbiológicas basadas en la detección de antígenos o anticuerpos.
- *Infección probable*: En ausencia de aislamiento en cultivo de patógeno o resultados negativos en las pruebas serológicas, se estableció el diagnóstico de infección en base a los datos clínicos, radiológicos o de pruebas de laboratorio que no suponen la demostración del agente etiológico, como por ejemplo la presencia de alteraciones en la tira reactiva de orina con en el análisis del sedimento urinario compatibles con infección.

Fueron considerados como con infección los pacientes con sospecha de infección y documentación microbiológica (cultivo u otras pruebas microbiológicas y serológicas).

Cuando las pruebas microbiológicas no fueron contributivas, pero los cuadros clínicos y biológicos sí lo fueron, y se descartaron otros posibles diagnósticos, el diagnóstico final fue el de infección.

Para la clasificación posterior de los pacientes infectados se utilizó la tercera definición de sepsis, y la disfunción orgánica se identificó como un cambio agudo en la puntuación de la evaluación del fallo orgánico (SOFA) secuencial de ≥ 2 puntos, como resultado de la infección. El shock séptico se definió como sepsis con hipotensión persistente que requirió vasopresores para mantener la presión arterial media ≥ 65 mm Hg y con un nivel de lactato sérico >2 mmol/L a pesar de la adecuada reposición de

volúmenes. De acuerdo con estos criterios, los pacientes infectados se clasificaron en subgrupos "Sepsis" e "Infección no complicada".

4.6 MAGNITUDES BIOQUÍMICAS

4.6.1. Extracción de las muestras de sangre

Para alcanzar los objetivos descritos se obtuvo sangre mediante venopunción al ingreso del paciente en el Servicio de Urgencias. Se extrajeron especímenes de sangre en tubos con anticoagulante EDTA K3 para hemograma y recuento diferencial leucocitario y tubos sin anticoagulante con gel separador, que se centrifugaron a 3000 rpm durante 5 minutos, para la obtención de suero y la medida de las magnitudes bioquímicas a criterio clínico, incluyendo siempre la medida de creatinina y bilirrubina como criterios necesarios para el cálculo de la escala SOFA, y PCT y PCR para el manejo asistencial de los pacientes y cuyos resultados fueron informados al clínico peticionario en un período de tiempo inferior a 1 hora. Tras el procesamiento, una alícuota de suero fue inmediatamente congelada y conservada a -80°C hasta la medida de PSP y sCD25. En ningún momento se solicitaron muestras con fines que no fueran asistenciales. La utilización de dichas muestras con fines de investigación tuvo lugar una vez finalizado dicho proceso asistencial.

En todos los pacientes, se extrajo muestra de sangre para cultivo y otros especímenes (esputo, orina, líquido cefalorraquídeo, heces, exudados, etc) a criterio clínico y en función del posible foco de infección, que fueron procesados e informados de acuerdo a los protocolos del Servicio de Microbiología y Parasitología.

4.6.2. Métodos analíticos

Los biomarcadores de infección que se analizan para este estudio se muestran en la Tabla 4.1

Tabla 4.1. Biomarcadores de infección analizados

Característica	PCT	PSP	sCD25
Muestra de elección	Suero	Suero	Suero
Muestra alternativa	Plasma (EDTA K3/heparina de Li)	Plasma (no especificado anticoagulante)	Plasma (no especificado anticoagulante)
Principio de medida	ECLIA	Enzimoinmunoensayo (ELISA)	Enzimoinmunoensayo (ELISA)
Analizador	Cobas e411 (Roche Diagnostics)	-	-
Valores de referencia	<0,5	7,6-14,5 ^a	
Unidades	ng/mL	ng/mL	ng/mL
Límite de detección	0,02	0,1 ^b -10 ^c	NE
Intervalo de medida	0,02-100	10-400 ^d	NE
Sensibilidad funcional	0,06	-	NE
Repetibilidad	1,3	-	NE
CV Inter-placa (%)	-	<10% ^e	NE
CV Intra-placa (%)	-	<5% ^e	NE

a Intervalo correspondiente a los percentiles 10 y 90 de una población de referencia [115].

b Límite de detección. Datos del ensayo original de Keel, M y cols. [111].

c Límite de detección efectivo (todas las muestras fueron diluidas 1:100 de acuerdo al protocolo de ensayo Human PSP ELISA kit).

d Todas las muestras con PSP > 400ng/mL fueron diluidas, de acuerdo al protocolo de ensayo Human PSP ELISA kit.

e Datos del ensayo original de Keel, M y cols. [111].

NE: No especificados por el fabricante

- **Procalcitonina:** La medición de procalcitonina fue realizada en todos los pacientes incluidos en el estudio como parte de la evaluación en el Servicio de Urgencias del paciente con sospecha de sepsis y fue utilizada como uno de los criterios para la sospecha de la misma. Su concentración sérica se midió mediante electroquimioluminiscencia (ECLIA) en un analizador Cobas e411 (Roche Diagnostics) con un límite de detección de 0,02 ng/mL y una sensibilidad funcional de 0,06 ng/mL.

El método de electroquimioluminiscencia es el desarrollado por Roche Diagnostics en colaboración con BRAHMS. Se trata de un proceso muy sensible en el que se generan especies reactivas en la superficie de un electrodo a partir de precursores estables (generalmente el rutenio), volviendo luego al estado basal mediante una reacción quimioluminiscente.

En primer lugar consta de una inmunorreacción convencional (competitiva o sandwich), donde el anticuerpo es incubado con la muestra y el marcador de rutenio unido a otro anticuerpo de captura. El inmunocomplejo formado es capturado por partículas de poliestireno magnéticas, recubiertas con estreptavidina, que fijan las moléculas. Tras la incubación oportuna, las partículas son arrastradas a una celda de flujo y allí se separa la fracción unida de la libre mediante un imán ubicado debajo del electrodo. El inmunocomplejo queda retenido en la superficie de éste.

Tras un proceso de lavado, se genera la señal de ECLIA al aplicar un voltaje al electrodo. El rutenio pasa a un estado excitado, inestable y luego decae a su estado basal emitiendo energía a una longitud de onda determinada. Una sola molécula de rutenio puede generar muchos fotones por reciclado del proceso de excitación, lográndose la amplificación de la señal con límites bajos de detección [124].

- ***Pancreatic Stone Protein:*** La Pancreatic Stone Protein fue medida mediante enzimoimmunoanálisis a través de una reacción no competitiva tipo *sandwich*.
- ***sCD25:*** fue medido también mediante enzimoimmunoanálisis, a través de una reacción no competitiva tipo *sandwich*.

El procedimiento de medida de PSP y sCD25 se realiza recubriendo las placas con el anticuerpo (Ac) de captura, con un posterior lavado para eliminar el exceso. Se añaden las muestras a los pocillos y se incuba 1 hora y media a temperatura ambiente agitándose a 300 rpm. Tras esto se desecha el sobrenadante y se procede a un lavado de la placa. Posteriormente se añade la solución del Ac que detecta el biomarcador unido al Ac que recubría la placa y se cubre con papel sellador para incubarse a temperatura ambiente 1 hora con una agitación.

Se procede a un lavado y se añade un conjugado que se dejará incubando otra hora. Finalmente se procede a medir la absorbancia a 450 nm en el lector de placas PR3100TSC de Biorad.

Para el análisis de los datos de absorbancia y su conversión a concentraciones se utiliza el programa Magellan v7.2 de Tecan®, utilizando para la conversión un análisis a 5 parámetros con uso automático de pesos relativos (1/Y²).

Para la medida de aquellas magnitudes requeridas para establecer la sospecha de infección y el cálculo de la escala SOFA, se utilizaron los métodos cuyas características se describen en la Tabla 4.2 y la Tabla 4.3.

Tabla 4.2. Características de las magnitudes medidas en suero

Magnitudes bioquímicas	Creatinina	Bilirrubina
Muestra	Suero	Suero
Principio de medida	Método Jaffé cinético (reacción de picrato alcalino)	Colorimetría. Modificación del método de diazotación de Jendrassik-Groff
Analizador	Dimension Vista (Siemens Healthcare)	Dimension Vista (Siemens Healthcare)
Intervalo de referencia (adultos)	Varón: 0,70-1,30 Mujer: 0,50-1,10	0,2-1,2
Unidades	mg/dL	mg/dL
Límite de detección	0,10	0,1
Intervalo de medida	0,10-20	0,1-25

Tabla 4.3. Características de las magnitudes medidas en sangre total

Magnitudes bioquímicas	Plaquetas	Leucocitos
Muestra	Sangre EDTA K3	Sangre EDTA K3
Principio de medida	Impedancia con tecnología de enfoque hidrodinámico	Citometría de flujo fluorescente
Analizador	Sysmex XT-4000i	Sysmex XT-4000i
Intervalo de referencia (adultos)	150-450	4,5-11,0
Unidades	$\times 10^3/\mu\text{L}$	$\times 10^3/\mu\text{L}$
Linealidad (Modo de sangre completa)	$\pm 5,0\%$ (0-2000) $\pm 16\%$ (2001-5000)	$\pm 3,0\%$ (0,00-100,00) $\pm 6\%$ (100,01-310,00) $\pm 11\%$ (310,01-440,00)

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos se utilizaron los programas SPSS, versión 20.0 (software SPSS Inc., Chicago, IL, USA) y MedCalc Statistical Software versión 13.3.3 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium).

La normalidad de las variables continuas fue evaluada mediante el test de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-Wilk según el caso. Las variables continuas se presentan como medianas (Intervalos entre cuartiles [IQR]) para los datos que no siguen una distribución normal, o como media (Desviación estándar [SD]) para aquellas variables que tienen una distribución normal.

Las comparaciones de las diferencias de los grupos para las variables continuas fueron realizadas por el test de U de Mann-Whitney o la t-Student según procedía.

Las variables categóricas se presentan como número y porcentaje en cada categoría.

La presencia de diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes fue evaluada mediante el test de Chi-cuadrado.

La sensibilidad, especificidad y Likelihood ratios de PCT, PSP y sCD5 para el diagnóstico de infección y sepsis se calcularon utilizando el diagnóstico final.

Se realizó un análisis de curvas ROC (Receiver Operating Characteristics) para cada uno de los biomarcadores y su rendimiento diagnóstico para la infección y sepsis se comparó con la prueba DeLong.

El punto de corte óptimo se fijó para cada curva ROC a través del índice de Youden (correspondiente al máximo de la suma "sensibilidad + especificidad").

Todos los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

4.8 FINANCIACIÓN

Esta investigación ha contado con el apoyo de Abbott Diagnostic Division, como parte del proyecto “Sepsis Biomarkers”. Abbott Diagnostic ha proporcionado los reactivos y materiales de control, calibración y otros (diluyentes, buffer, etc) necesarios para la determinación de PSP y sCD25.

4.9 COMITÉ ÉTICO

Este estudio se llevó a cabo conforme al protocolo redactado de antemano y con la aprobación del Comité de Investigación y del Comité de Ética y de Investigación Clínica del Hospital Universitario Santa Lucía, Área II de Salud del Servicio Murciano de Salud (E.O. 2013-28-2).

Toda la información del estudio fue centralizada en una base datos, controlada y custodiada por el investigador principal y a la que sólo tuvieron acceso los investigadores colaboradores. El acceso a los datos clínicos y analíticos de los pacientes se ha realizado respetando la más estricta confidencialidad, limitándose a aquellos datos objeto de este estudio.

Los procedimientos incluidos en el protocolo del estudio no supusieron ninguna modificación sobre la práctica clínica habitual de los Servicios de Urgencias del Hospital Universitario Santa Lucía y se ajustaron a los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, recogidas en la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. La inclusión en este estudio no ha supuesto riesgo alguno para los sujetos participantes. El manejo del paciente séptico se realizó de acuerdo a las recomendaciones internacionales vigentes en el momento en el que el estudio fue realizado.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

En la muestra poblacional objeto de estudio se incluyeron 152 pacientes adultos que fueron atendidos en el Servicio de Urgencias del Hospital Universitario Santa Lucía por sospecha de infección y de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión previamente definidos.

En 23 (15,1%) pacientes, y de acuerdo a los criterios previamente definidos para la clasificación de los pacientes, no se confirmó finalmente el diagnóstico de infección. 129 (84,9%) fueron diagnosticados de infección. Las características clínicas de los pacientes se describen en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1. Características basales de la población de estudio

Variables clínicas	Todos n=152	No infección n=23	Infección n=129	Valor de p
Edad, años	66 (33)	66 (36)	67 (32)	0,386
Sexo masculino	88 (58)	12 (52,2)	76 (58,9)	0,830
Terapia ATB previa	36 (23,7)	4 (17,4)	32 (24,8)	0,441
Comorbilidades				
Cardiopatía isquémica	35 (23,0)	7 (30,4)	28 (21,7)	0,360
HTA	66 (43,4)	9 (39,1)	57 (44,2)	0,652
ERC	20 (13,1)	0	20 (15,5)	0,043
EPOC	22 (14,5)	1 (4,34)	21 (16,3)	0,134
DM	39 (25,7)	6 (20,1)	33 (25,6)	0,959
Paciente oncológico	3 (2,0)	0	3 (2,3)	0,460
Inmunosupresión	6 (3,9)	2 (8,7)	4 (3,1)	0,204

ATB: Antibiótico. HTA: Hipertensión arterial. ERC: Enfermedad renal crónica. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. DM: Diabetes mellitus. Los datos expresan mediana (rango intercuartílico) y n (%)

5.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN CON DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN

En base a los criterios previamente establecidos para el diagnóstico de sepsis, 82 (63,6%) pacientes presentaron un diagnóstico de infección no complicada y 47 (36,4%) de sepsis, incluyendo 10 (36,4%) con shock séptico. Las características basales de los pacientes con infección se describen en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2. Características basales de la población con diagnóstico de infección

Variables clínicas	Infección no complicada n=82 (63,6)	Sepsis * n=47 (36,4)	Valor de p
Edad, años	64 (31)	73 (27)	0,028
Sexo masculino	49 (59,8)	20 (42,6)	0,798
Terapia ATB previa	22 (26,8)	10 (21,3)	0,482
Comorbilidades [n (%)]			
Cardiopatía isquémica	16 (19,5)	12 (25,5)	0,425
HTA	38 (46,3)	19 (40,4)	0,515
ERC	11 (13,4)	9 (19,1)	0,387
EPOC	10 (12,2)	11 (23,4)	0,097
DM	20 (24,4)	13 (26,7)	0,682
Paciente oncológico	0	3 (6,4)	0,021
Inmunosupresión	1 (1,2)	3 (6,4)	0,103

*Incluyendo sepsis (n=37 [78,7 %]) y shock séptico (n=10 [21,3%]). ATB: Antibiótico. HTA: Hipertensión arterial. ERC: Enfermedad renal crónica. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. DM: Diabetes mellitus. Los datos expresan mediana (rango intercuartílico) y n (%)

5.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LA POBLACIÓN CON DIAGNÓSTICO FINAL DE INFECCIÓN

En los pacientes con diagnóstico de infección, ésta fue documentada mediante las pruebas microbiológicas en 68 (52,7%), siendo diagnosticada en el resto de pacientes [61 (47,3%)] en base a los datos clínicos y/o radiológicos.

El foco de infección más frecuente fue el urinario, en el 41,1% de los casos, seguido del respiratorio en el 31,8%. Respecto a los microorganismos más frecuentemente identificados como agente etiológico del proceso infeccioso, las bacterias Gram negativas fueron aisladas en 48 pacientes, las bacterias Gram positivas en 15 pacientes y el aislamiento fue mixto en 2.

La bacteriemia fue detectada en 30 (23,3%) pacientes, siendo *Escherichia coli* el microorganismo aislado con mayor frecuencia (63,3%). Las características microbiológicas de la población estudiada y de ambos grupos se detallan en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3. Características microbiológicas de la población con diagnóstico de infección

Variables clínicas	Infección n=129	Infección no complicada n=82	Sepsis * n=47	Valor de p
Foco infeccioso, n (%)				0,214
Urinario	53 (41,1)	35 (42,7)	18 (38,3)	
Respiratorio	41 (31,8)	29 (35,4)	12 (25,5)	
Abdominal	19 (14,7)	9 (11)	10 (21,3)	
Piel y partes blandas	8 (6,2)	6 (7,3)	2 (4,3)	
Sistema nervioso central	1 (0,8)	0 (0)	1 (2,1)	
Bacteriemia primaria	1 (0,8)	1 (1,2)	0 (0)	
Otros ¹ /Desconocido	6 (4,7)	2 (2,4)	4 (8,5)	
Bacteriemia, n (%)	30 (23,3)	10 (12,2)	20 (42,6)	<0,001
Documentación de infección, n (%)				0,023
Microbiológica	68 (52,7)	37 (45,1)	31 (66,0)	
Clínica/Radiológica	61 (47,3)	45 (54,9)	16 (34,0)	

*Sepsis (n=37 [78,7 %]) y shock séptico (n=10 [21,3%]). ¹Malaria y endocarditis.

5.4 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN

La comparación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores entre los pacientes sin y con infección demostró la

presencia de concentraciones significativamente más altas de PCT, PSP y sCD25 en el segundo grupo ($p < 0,001$ para todos ellos), tal y como se muestra en la Tabla 5.4.

Tabla 5.4. Relación de las concentraciones de los biomarcadores estudiados entre grupo de pacientes y grupo control

Niveles de BM (Mediana [IQR])	No-infección n=23	Infección n=129	Valor de p
PSP (ng/mL)	23 (14)	73 (173)	<0,001
sCD25 (ng/mL)	3,8 (0,9)	7,5 (7,6)	<0,001
PCT (ng/mL)	0,07 (0,10)	0,54 (2,23)	<0,001

En la Figura 5.1 se muestra la diferencia de concentración de PSP en pacientes con infección y sin infección

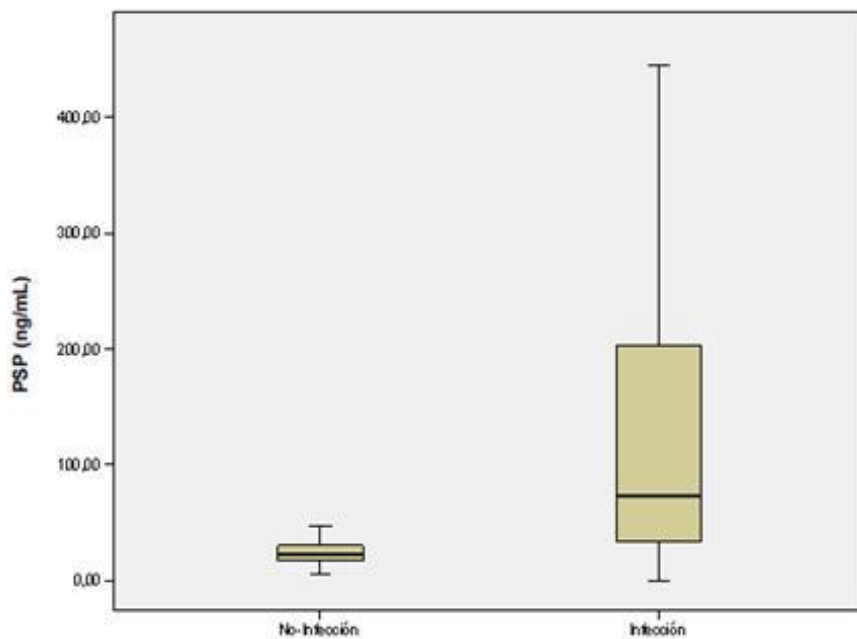


Figura 5.1. Diagrama de cajas de PSP para el diagnóstico de infección

En la Figura 5.2 se muestra la diferencia de concentración de sCD25 en pacientes con infección y sin infección.

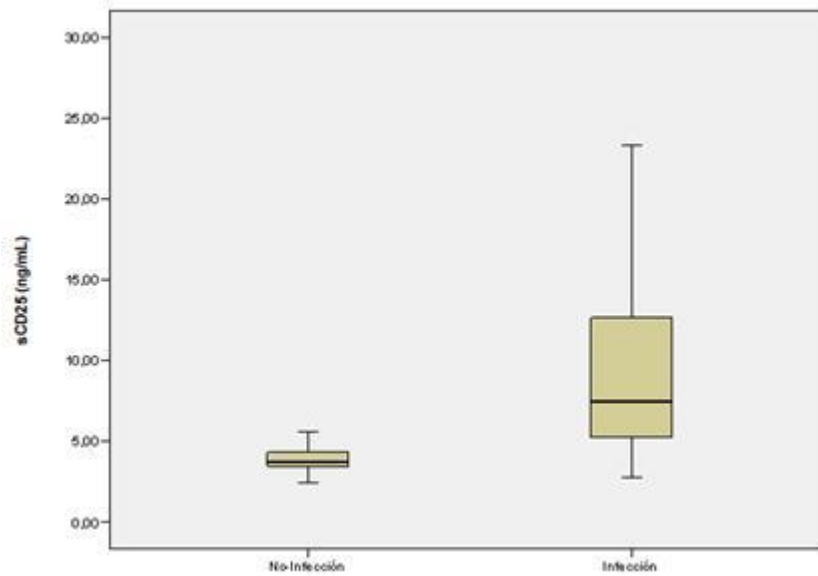


Figura 5.2. Diagrama de cajas de sCD25 para el diagnóstico de infección

En la Figura 5.3 se muestra la diferencia de concentración de PCT en pacientes con infección y sin infección.

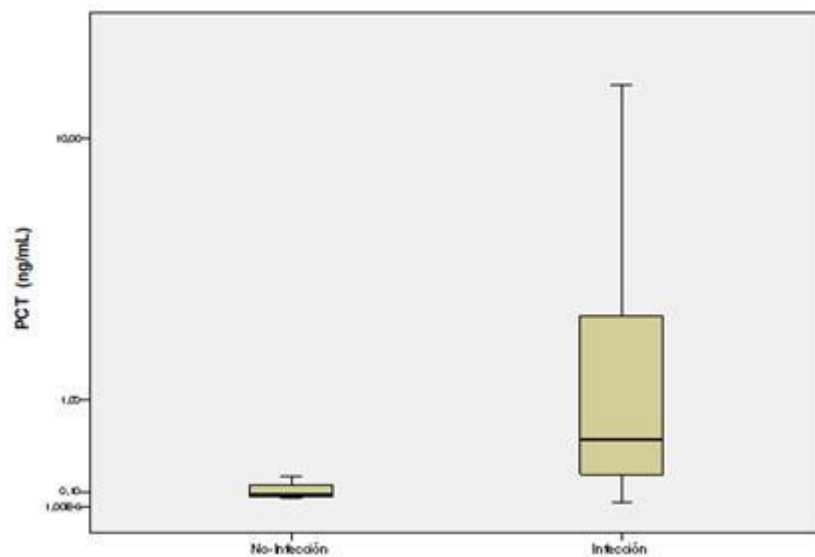


Figura 5.3. Diagrama de cajas de PCT para el diagnóstico de infección

Respecto al rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de infección, los 3 presentaron un alto rendimiento, con AUC ROC superior a 0,8, y sin diferencias significativas entre ellos, como se detalla en la Figura 5.4 y la Tabla 5.5, junto con los puntos de corte óptimos seleccionados para optimizar sensibilidad y especificidad, así como los datos de sensibilidad, especificidad y likelihood ratios.

Tabla 5.5. Rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de infección.

Biomarcador	PSP (ng/mL)	sCD25 (ng/mL)	PCT (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,839 (0,773-0,904) p<0,001	0,869 (0,796-0,942) p<0,001	0,904 (0,852-0,955) p<0,001
Punto de corte óptimo*	41,5	4,4	0,2
Sensibilidad	67,4 (58,6-75,4)	85,3 (78,0-90,9)	79,8 (71,9-86,4)
Especificidad	95,7 (78,1-99,9)	78,3 (56,3-92,5)	91,3 (72,0-98,9)
LR+ (IC 95%)	15,5 (2,3-105,9)	3,9 (1,8-8,5)	9,2 (2,4-34,6)
LR – (IC95%)	0,34 (0,3-0,4)	0,19 (0,1-0,3)	0,22 (0,2-0,3)

*En base al índice de Youden. AUC: Área bajo la curva; IC: Intervalo de confianza; LR (+): Likelihood ratio positivo; LR (-): Likelihood ratio negativo. Comparación entre biomarcadores: PSP vs. sCD25 $p=0,456$; PSP vs. PCT $p=0,094$; sCD25 vs. PCT $p=0,465$

Para comprobar un posible incremento del valor diagnóstico de la PCT medida de forma aislada mediante su asociación con los otros dos biomarcadores, se calculó el AUC ROC de las medidas combinadas de PCT y PSP y de PCT y sCD25, obteniéndose los resultados detallados en la Tabla 5.6.

Tabla 5.6. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT y sCD25+PCT, en comparación con la PCT para el diagnóstico de infección

Biomarcador	PCT (ng/mL)	PCT+PSP (ng/mL)	PCT+sCD25 (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,904 (0,852-0,955) p<0,001	0,933 (0,892-0,973) p<0,001	0,944 (0,905-0,983) p<0,001

Las AUC ROC obtenidas de los biomarcadores aislados y las asociaciones con PCT se muestran en la Figura 5.4.

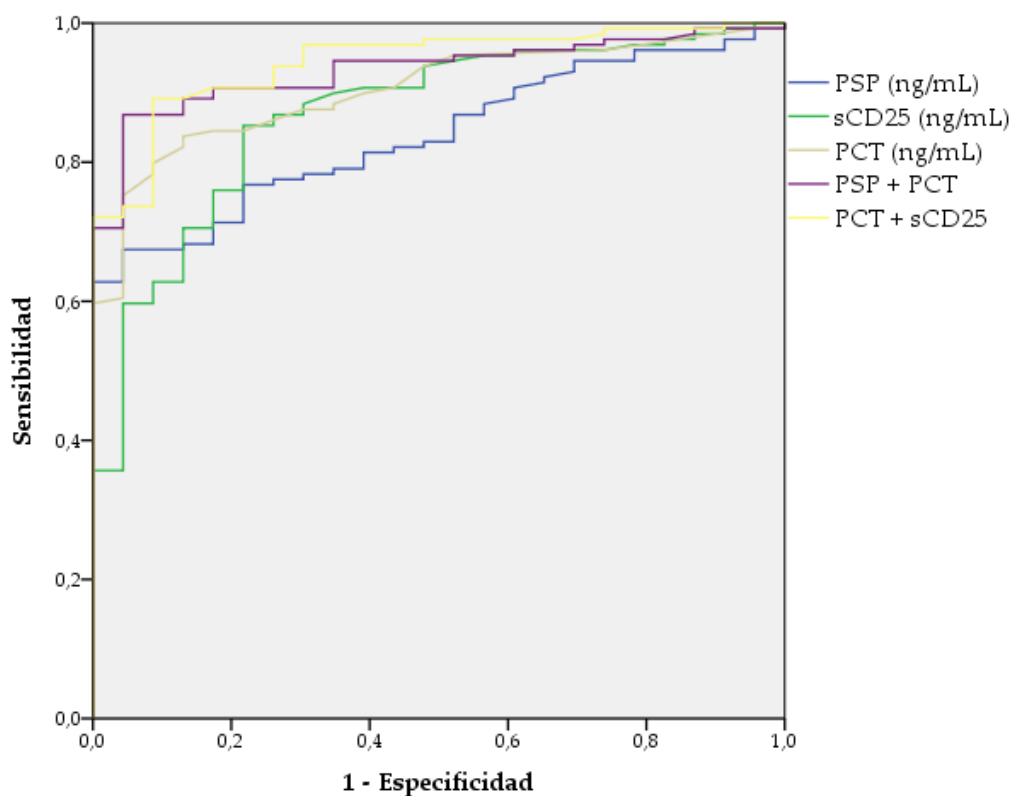


Figura 5.4. Curvas ROC para los biomarcadores de infección y sus asociaciones con la PCT para el diagnóstico de infección

5.5 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE SEPSIS

La comparación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores entre los pacientes con sepsis e infección no complicada demostró la presencia de concentraciones significativamente más altas de PCT, PSP y sCD25 en el primer grupo ($p < 0,001$ para todos ellos), tal y como se muestra en la Tabla 5.7

Tabla 5.7. Relación de las concentraciones de los biomarcadores estudiados para el diagnóstico de sepsis

Niveles de BM (Mediana [IQR])	Infección no complicada n=82	Sepsis * n=47	Valor de p
PSP (ng/mL)	44 (62)	252 (254)	<0,001
sCD25 (ng/mL)	5,8 (4,0)	12,0 (10,5)	<0,001
PCT (ng/mL)	0,33 (0,72)	3,78 (13,4)	<0,001

En la Figura 5.5, Figura 5.6 y Figura 5.7 se muestran las diferencias de concentraciones de los biomarcadores en pacientes con infección no complicada y sepsis.

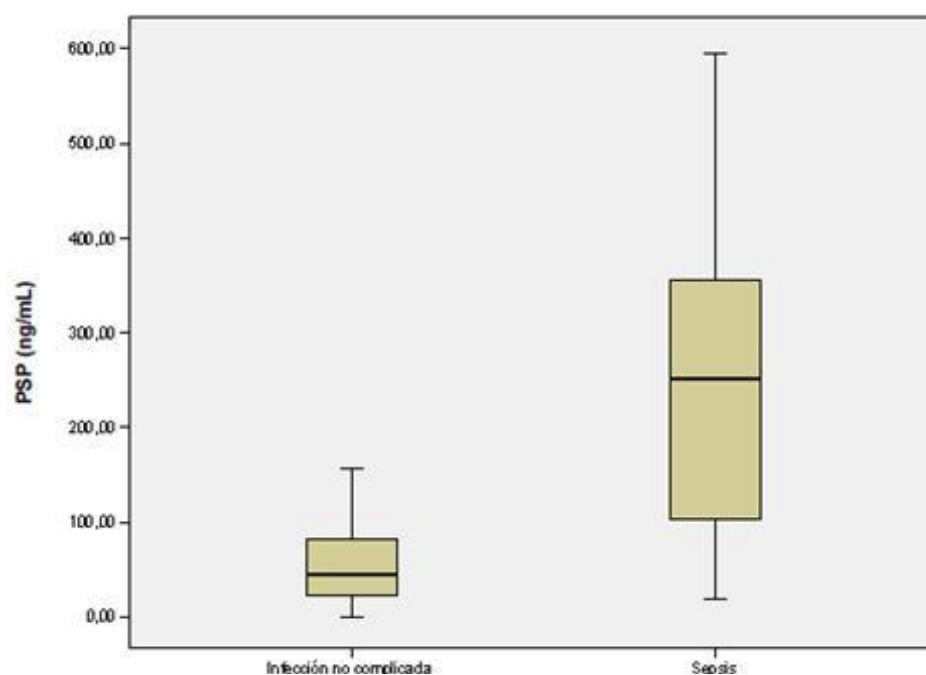


Figura 5.5. Diagrama de cajas de PSP para evaluar el diagnóstico de sepsis

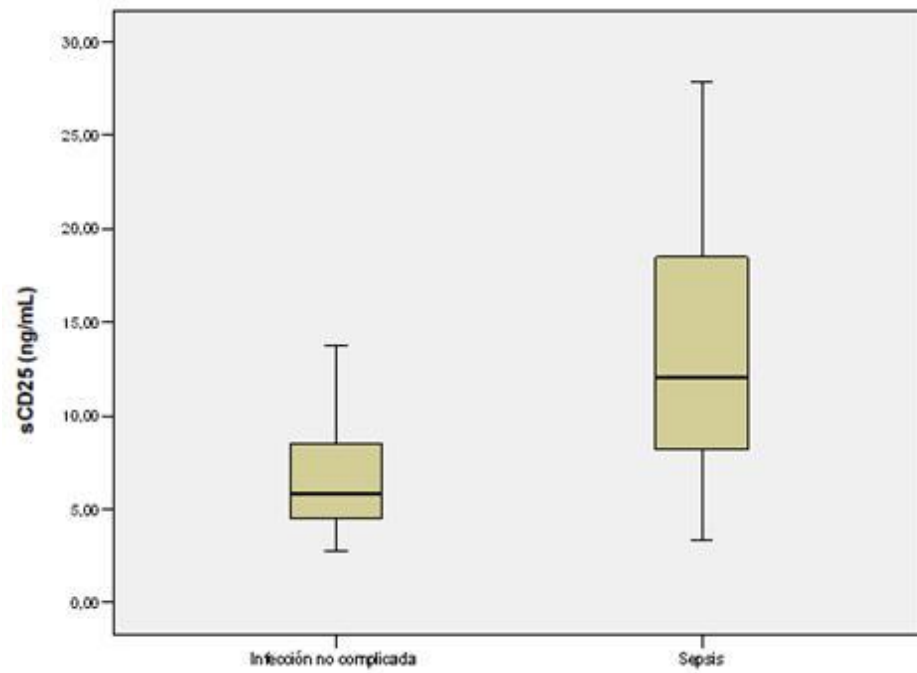


Figura 5.6. Diagrama de cajas de sCD25 para evaluar el diagnóstico de sepsis

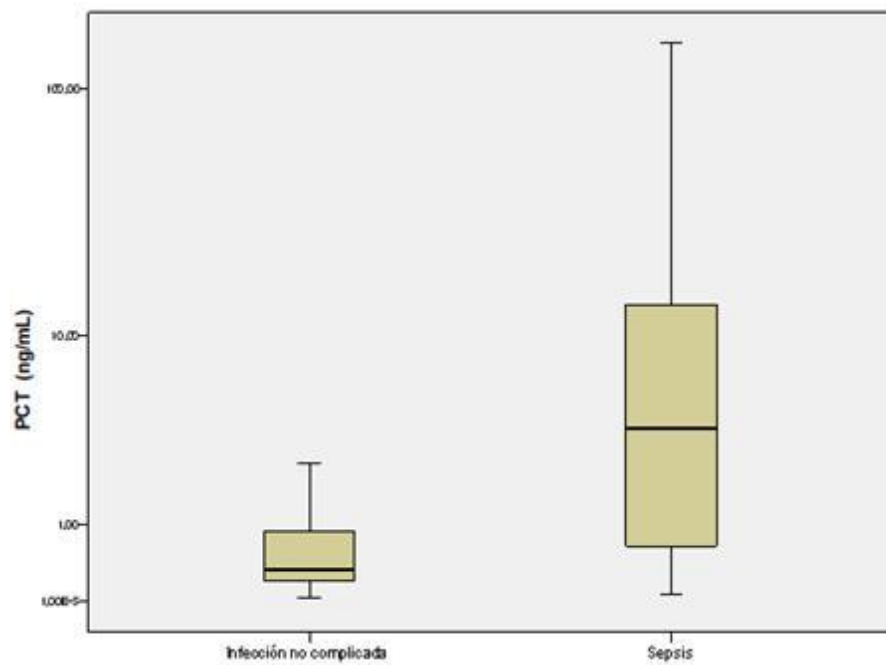


Figura 5.7. Diagrama de cajas de PCT para el diagnóstico de sepsis

Respecto al rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de sepsis, los 3 presentaron un alto rendimiento, con AUC ROC superior a 0,8, y sin diferencias significativas entre ellos, como se detalla en la Figura 5.8 y la Tabla 5.8, junto con los puntos de corte óptimos seleccionados para optimizar sensibilidad y especificidad, así como los datos de sensibilidad, especificidad y likelihood ratios.

Tabla 5.8 .Rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de sepsis

Biomarcador	PSP (ng/mL)	sCD25 (ng/mL)	PCT (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,872 (0,807-0,937) p<0,001	0,835 (0,764-0,906) p<0,001	0,820 (0,739-0,901) p<0,001
Punto de corte óptimo*	96,6	6,87	2,02
Sensibilidad	80,9 (66,7-90,9)	89,4 (76,9-96,5)	61,7 (46,4-75,5)
Especificidad	79,3 (68,9-87,4)	64,6 (53,3-74,9)	91,5 (83,2-96,5)
LR+ (IC 95%)	3,90 (2,5-6,1)	2,53 (1,9-3,4)	7,23 (3,4-15,2)
LR – (IC95%)	0,24 (0,1-0,4)	0,16 (0,07-0,4)	0,42 (0,3-0,6)

*En base al índice de Youden. AUC:Área bajo la curva; IC: Intervalo de confianza; LR (+): Likelihood ratio positivo; LR (-): Likelihoodratio negativo. Comparación entre biomarcadores PSP vs. sCD25 p=0,297; PSP vs. PCT p=0,218; sCD25 vs. PCT p=0,749.

Para comprobar un posible incremento del valor diagnóstico de la PCT se calculó el AUC ROC de las medidas combinadas de PCT y PSP y de PCT y sCD25, obteniéndose los resultados detallados en la Tabla 5.9.

Tabla 5.9. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT, sCD25+PCT, en comparación con la PCT para el diagnóstico de sepsis

Biomarcador	PCT (ng/mL)	PCT+PSP (ng/mL)	PCT+sCD25 (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,820 (0,739-0,901) p<0,001	0,850 (0,778-0,921) p<0,001	0,845 (0,773-0,918) p<0,001

Las AUC ROC obtenidas de los biomarcadores aislados y las asociaciones con PCT se muestran en la Figura 5.8.

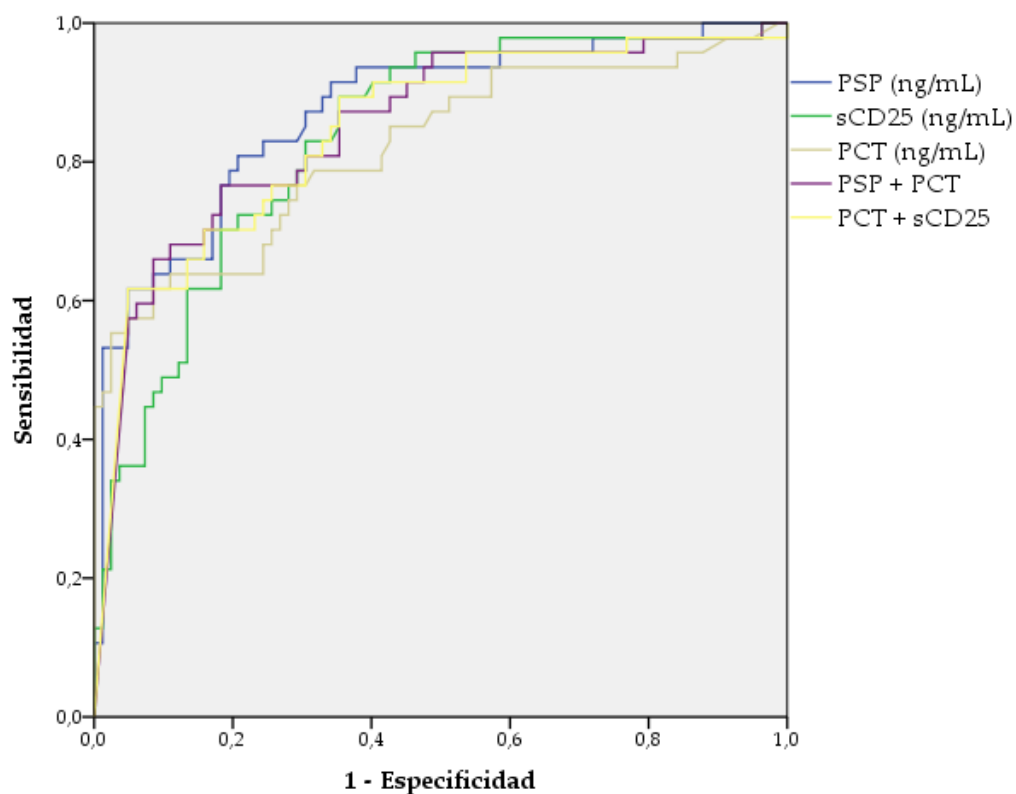


Figura 5.8. Curvas ROC para los biomarcadores de infección y sus asociaciones con la PCT para el diagnóstico de sepsis

5.6 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA SEVERIDAD DE LA SEPSIS.

La comparación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores entre los pacientes con sepsis grave y shock séptico se muestran en la Tabla 5.10. Sólo la concentración de sCD25 fue significativamente más alta, aunque de forma marginal.

Tabla 5.10. Relación de las concentraciones de los biomarcadores en la severidad de la sepsis

Niveles de BM (Mediana [IQR])	Sepsis n=37	Shock séptico n=10	Valor de p
PSP (ng/mL)	223 (203)	307 (373)	0,449
sCD25 (ng/mL)	10,7 (9,7)	18,0 (5,2)	0,049
PCT (ng/mL)	2,65 (12,94)	10,7 (61,09)	0,159

En la Figura 5.9, Figura 5.10 y Figura 5.11 se muestran las diferencias de concentraciones de los biomarcadores en pacientes con sepsis grave y shock séptico.

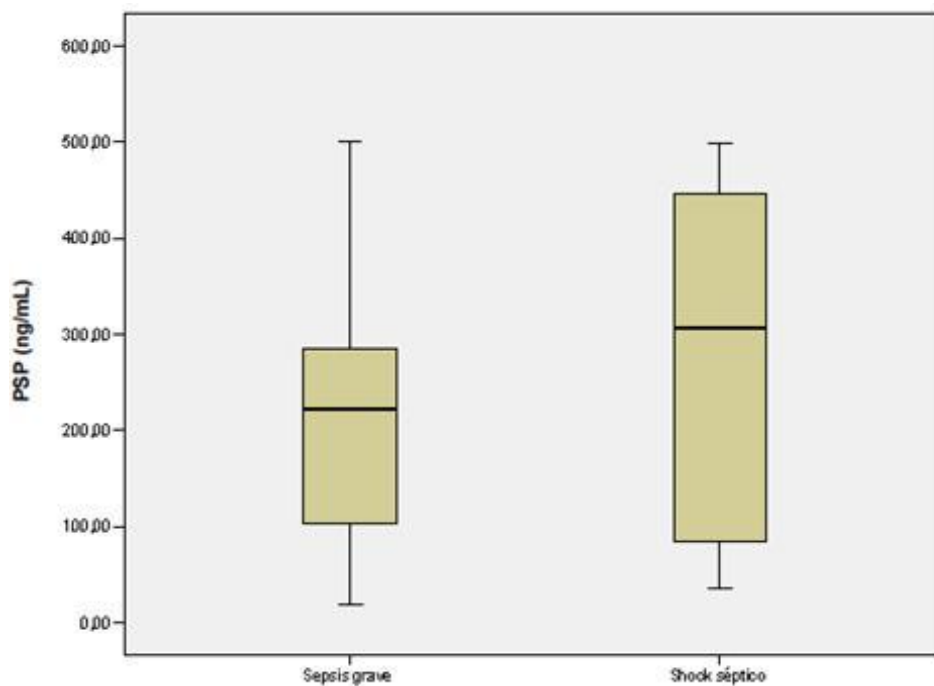


Figura 5.9. Diagrama de cajas de PSP para evaluar la severidad de la sepsis

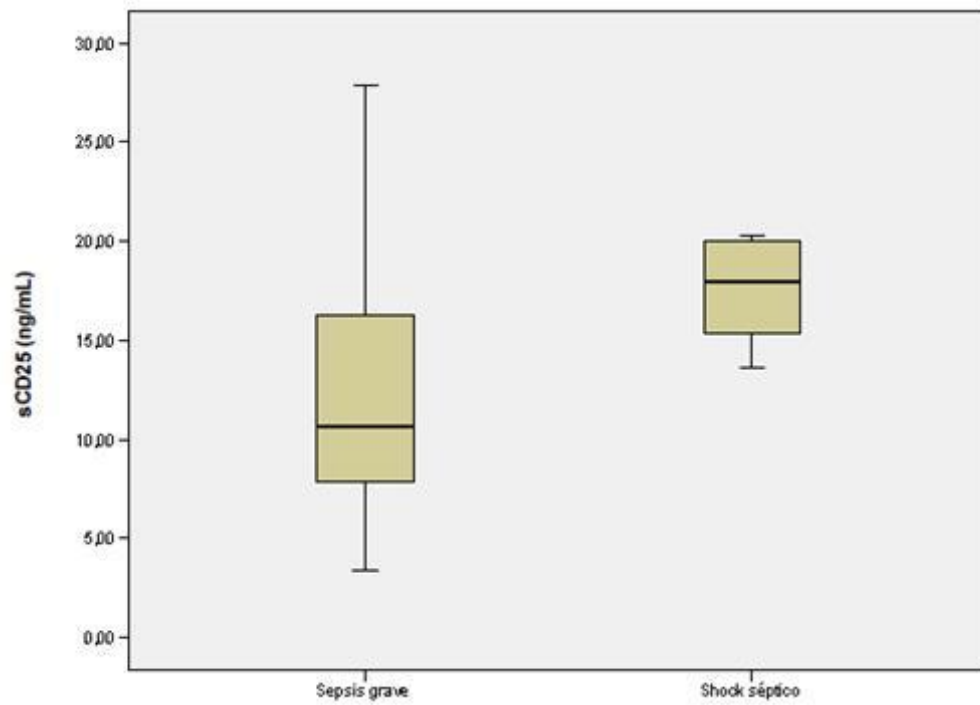


Figura 5.10. Diagrama de cajas de sCD25 para evaluar la severidad de la sepsis

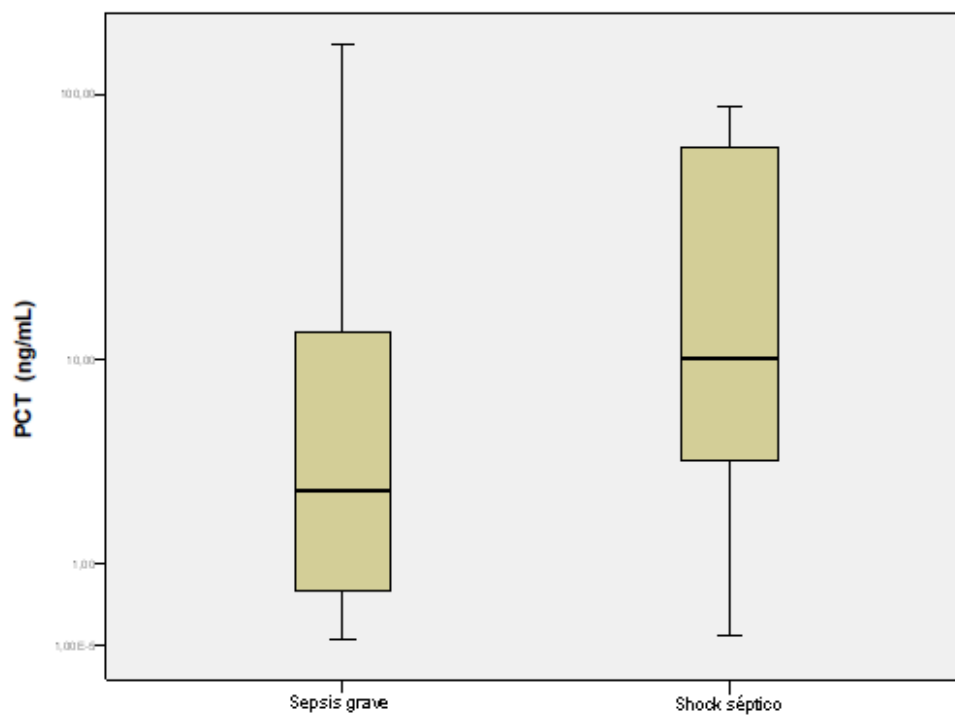


Figura 5.11. Diagrama de cajas de PCT para evaluar la severidad de la sepsis

Respecto al rendimiento de los biomarcadores para la evaluación de la severidad de la sepsis sólo el sCD25 tuvo un AUC ROC significativa aunque de forma marginal, tal y como describe en la Tabla 5.11.

Tabla 5.11. Rendimiento de los biomarcadores para la evaluación de la severidad de la sepsis

Biomarcador	PSP (ng/mL)	sCD25 (ng/mL)	PCT (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,581 (0,353-0,809) p=0,436	0,705 (0,522-0,889) p=0,048	0,649 (0,456-0,842) p=0,143

Por otro lado, se calculó el AUC ROC de las medidas combinadas de PCT y PSP y de PCT y sCD25, obteniéndose los resultados detallados en la Tabla 5.12.

Tabla 5.12. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT, sCD25+PCT, en comparación con la PCT para la evaluación de la severidad de la sepsis

Biomarcador	PCT (ng/mL)	PCT+PSP (ng/mL)	PCT+sCD25 (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,649 (0,456-0,842) p=0,153	0,681 (0,517-0,845) p=0,082	0,845 (0,513-0,858) p=0,075

No se representan las AUC ROC de los biomarcadores de infección aislados ni de sus combinaciones con PCT por no ser significativas.

5.7 ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL FOCO DE INFECCIÓN EN LAS CONCENTRACIONES DE BIOMARCADORES EN PACIENTES CON INFECCIÓN

La comparación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores entre los diferentes focos de infección no tuvo significación estadística, tal y como se describe en la Tabla 5.13.

Tabla 5.13. Relación de las concentraciones de los biomarcadores y el foco de infección

Niveles de BM (Mediana [IQR])	Urinario n=53 (41,1%)	Respiratorio n=41 (31,2%)	Abdominal n=19 (14,7%)	Otros n=16 (12,4%)	Valor de p
PSP (ng/mL)	58 (121)	81 (129)	227 (201)	49 (168)	0,079
sCD25 (ng/mL)	7,6 (6,3)	6,7 (5,4)	10,3 (10,6)	8,3 (12,1)	0,073
PCT (ng/mL)	0,6 (1,8)	0,5 (2,8)	0,93 (10,5)	0,5 (3,1)	0,453

En la Figura 5.12, Figura 5.13 y Figura 5.14 se muestran las relaciones de las diferencias de concentraciones de los biomarcadores y los distintos focos de infección.

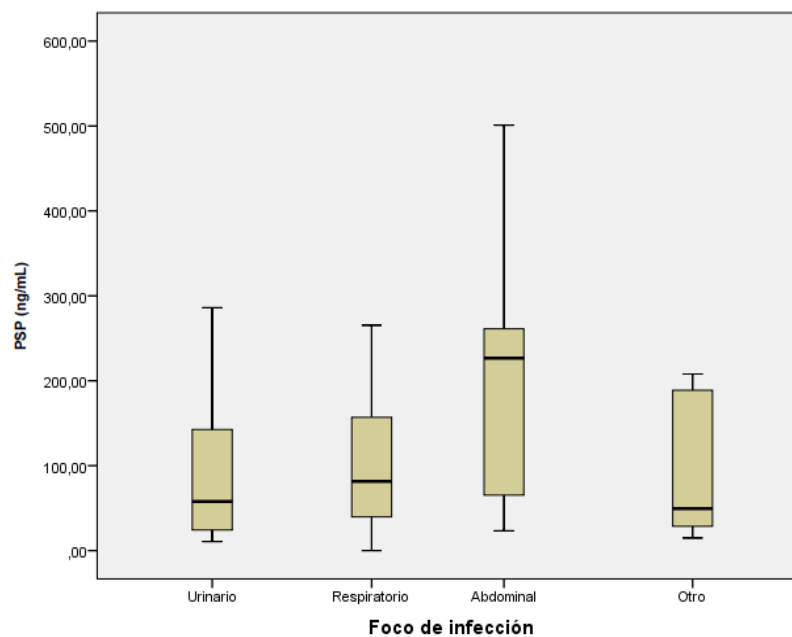


Figura 5.12. Diagrama de cajas de PSP y el foco de infección

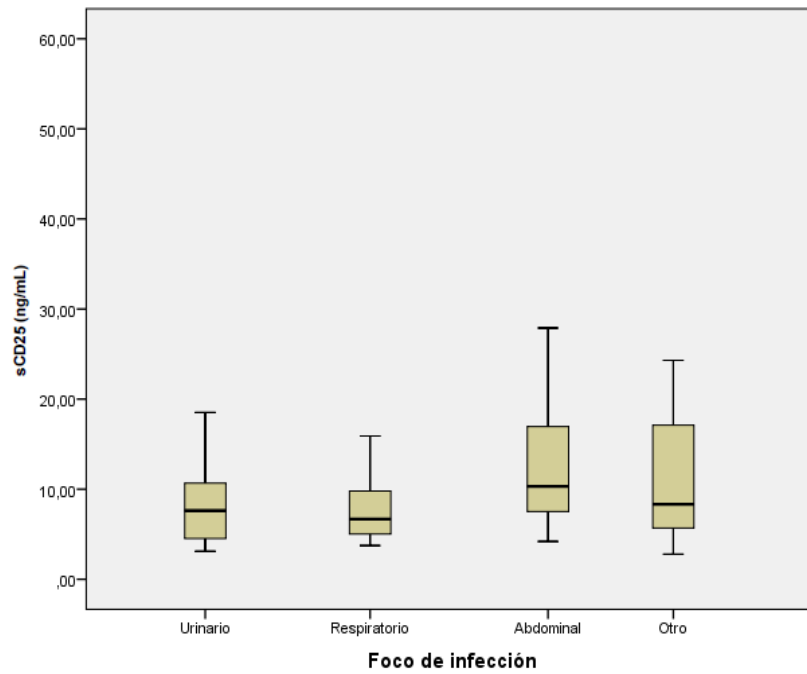


Figura 5.13. Diagrama de cajas de sCD25 y el foco de infección

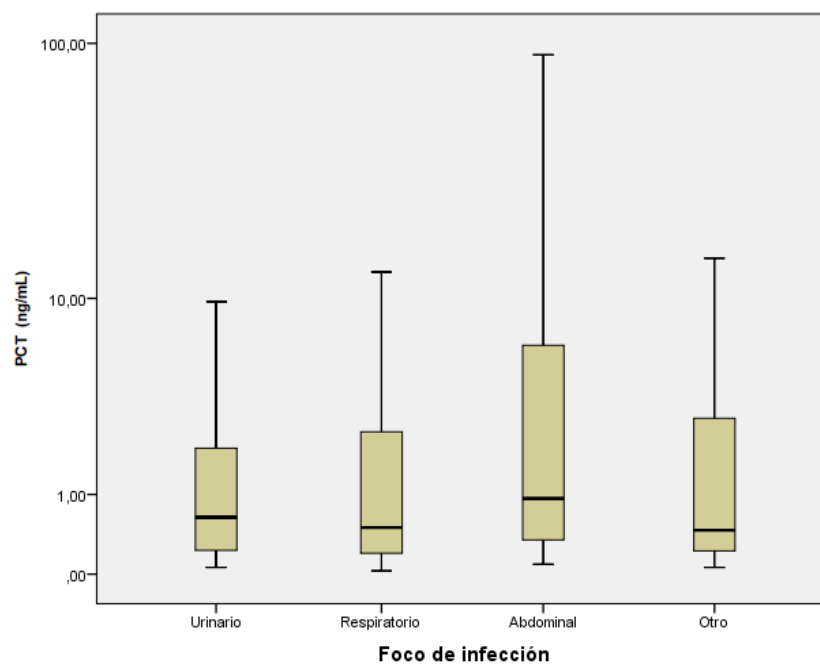


Figura 5.14. Diagrama de cajas de PCT y el foco de infección

5.8 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE BIOMARCADORES PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIEMIA. INFLUENCIA DE LA ETIOLOGÍA EN LOS NIVELES DE LOS BIOMARCADORES

La comparación de las concentraciones de los diferentes biomarcadores entre los pacientes con bacteriemia y sin bacteriemia demostró la presencia de concentraciones significativamente más altas de PCT, PSP y sCD25 en el primer grupo, tal y como se muestra en Tabla 5.14.

Tabla 5.14. Concentración de biomarcadores en pacientes infectados con y sin bacteriemia

Niveles de BM (Mediana [IQR])	No bacteriemia n=99	Bacteriemia n=30	Valor de p
PSP (ng/mL)	59,2 (127,1)	132,9 (219,3)	0,004
sCD25 (ng/mL)	6,9 (5,1)	12,0 (11,1)	0,003
PCT (ng/mL)	0,43 (1,1)	2,14 (14,5)	<0,001

En la Figura 5.15, Figura 5.16 y Figura 5.17 se muestran las diferencias de concentraciones de PSP, sCD25 y PCT en pacientes con y sin bacteriemia.

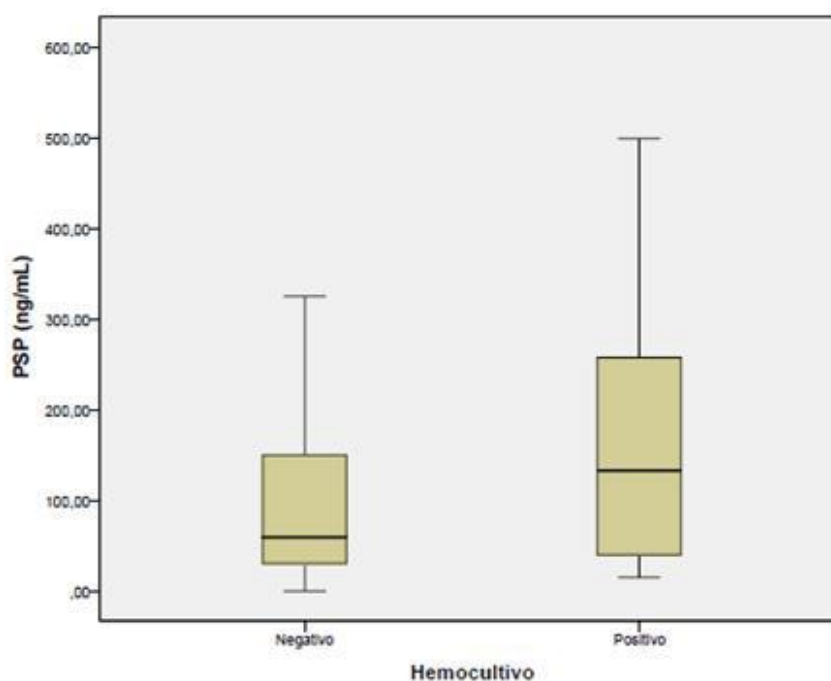


Figura 5.15. Diagrama de cajas de PSP para evaluar la presencia de bacteriemia

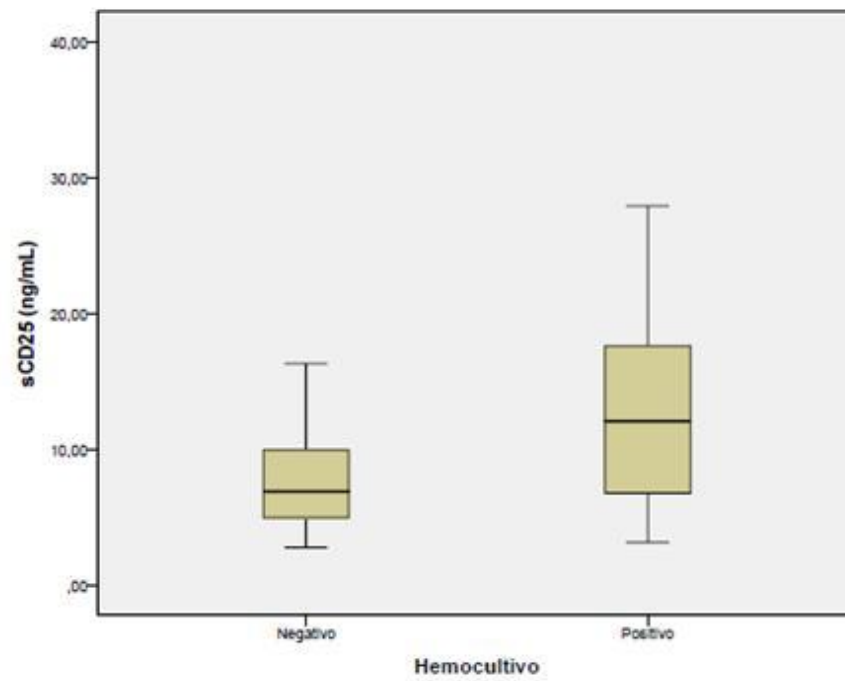


Figura 5.16. Diagrama de cajas de sCD25 para evaluar la presencia de bacteriemia

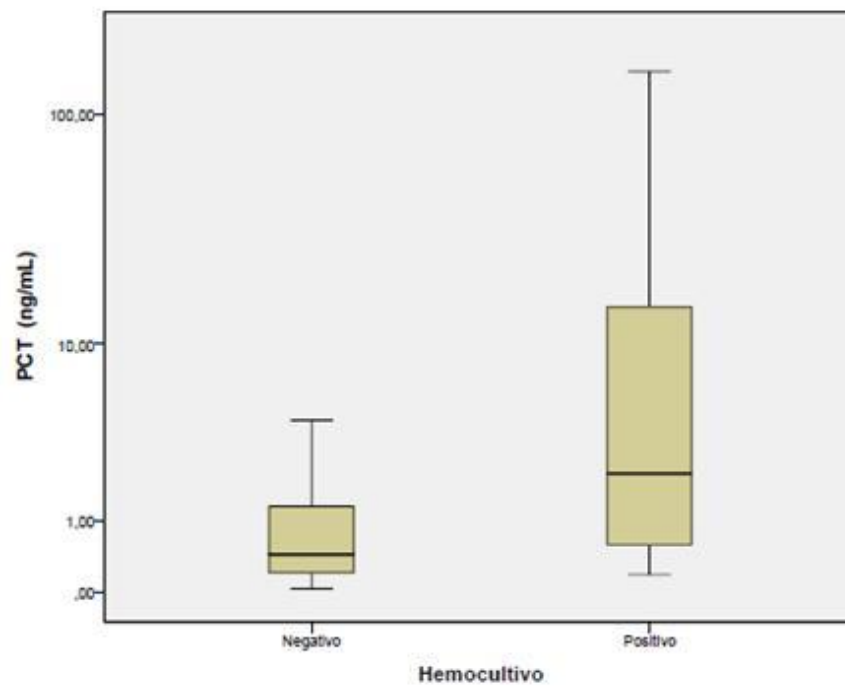


Figura 5.17. Diagrama de cajas de PCT para evaluar la presencia de bacteriemia

Respecto al rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de bacteriemia, los 3 presentaron un rendimiento moderado. La PCT fue el biomarcador con mayor rendimiento. Sólo existe diferencia significativa entre PSP y PCT, no evidenciándose dicha diferencia al realizar comparaciones entre los otros biomarcadores. Las AUC ROC junto con los puntos de corte óptimos seleccionados para optimizar sensibilidad y especificidad, así como los datos de sensibilidad, especificidad y likelihood ratios se muestran en la Tabla 5.15.

Tabla 5.15. Rendimiento de los biomarcadores para el diagnóstico de bacteriemia

Biomarcador	PSP (ng/mL)	sCD25 (ng/mL)	PCT (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,622 (0,506-0,738) p=0,004	0,679 (0,557-0,801) p=0,003	0,752 (0,658-0,847) p<0,001
Punto de corte óptimo*	203	9,1	0,67
Sensibilidad	46,7 (28,3-65,7)	66,7 (47,2-82,7)	73,3 (54,1-87,7)
Especificidad	81,8 (72,8-88,9)	71,7 (61,8-80,3)	64,7 (54,4-74,0)
LR+ (IC 95%)	2,57 (1,5-4,5)	2,24 (1,5-3,4)	2,07 (1,5-2,9)
LR – (IC95%)	0,65 (0,5-0,9)	0,51 (0,3-0,8)	0,41 (0,2-0,8)

*En base al índice de Youden. AUC: Área bajo la curva; IC: Intervalo de confianza; LR (+): Likelihood ratio positivo; LR (-): Likelihood ratio negativo. Comparación entre biomarcadores: PSP vs. sCD25 p=0,301; PSP vs. PCT p=0,008; sCD25 vs. PCT p=0,222.

Para comprobar un posible incremento del valor diagnóstico de la PCT medida de forma aislada mediante su asociación con los otros dos biomarcadores, se calculó el AUC ROC de las medidas combinadas de PCT y PSP y de PCT y sCD25, obteniéndose los resultados detallados en la Tabla 5.16.

Tabla 5.16. Precisión diagnóstica para las combinaciones de los biomarcadores PSP+PCT y sCD25 +PCT, en comparación con la PCT para el diagnóstico de bacteriemia

Biomarcador	PCT (ng/mL)	PCT+PSP (ng/mL)	PCT+sCD25 (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,752 (0,658-0,847) p<0,001	0,683 (0,572-0,795) p=0,002	0,711 (0,591-0,832) p<0,001

Las AUC ROC obtenidas de los biomarcadores aislados y las asociaciones con PCT se muestran en la Figura 5.18.

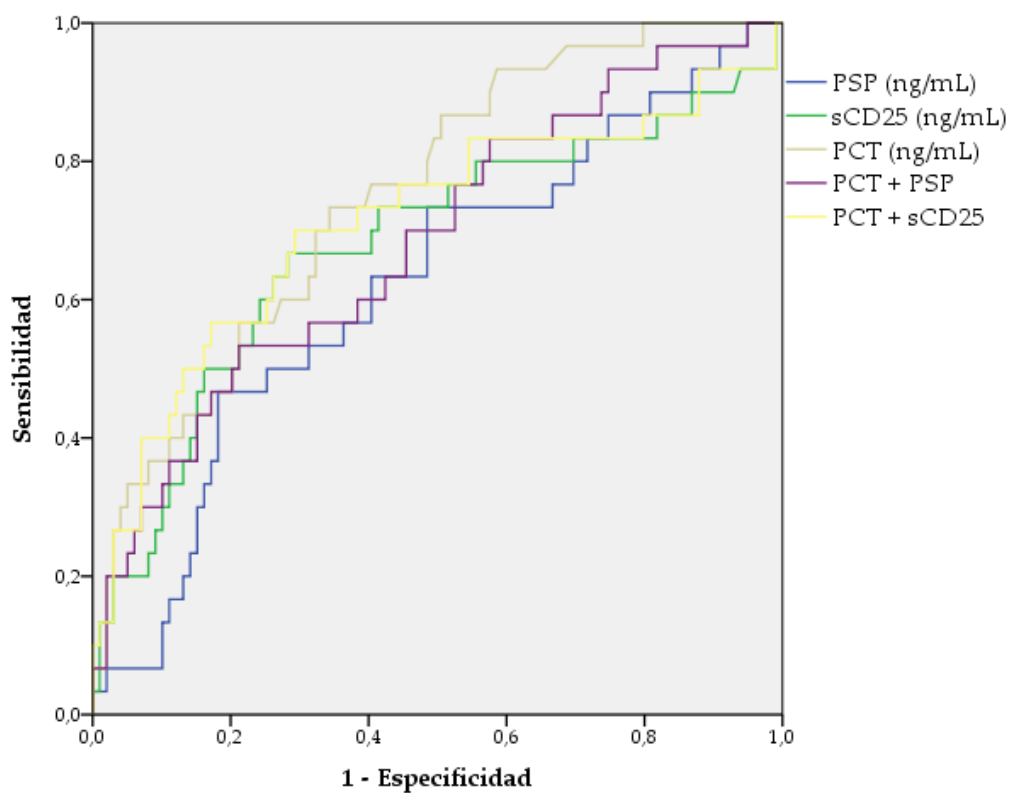


Figura 5.18 Curvas ROC para los biomarcadores de infección y sus asociaciones con la PCT para el diagnóstico de bacteriemia

En cuanto a la influencia de la etiología de la infección en la concentración de los niveles de los biomarcadores, los resultados obtenidos se detallan en la Tabla 5.17, expresados como media (DE). En 30 pacientes se detectó un episodio de bacteriemia, 22 (71,3%) por microorganismos Gram negativos, 6 (20,0%) por Gram positivos y 2(6,7%) mixtas que fueron excluidas para valorar la influencia de la etiología en las concentraciones de los biomarcadores. No se observaron diferencias significativas en ninguno de los biomarcadores.

Tabla 5.17. Concentración de biomarcadores en pacientes con bacteriemia en función de la etiología

Niveles de BM (Media [SD])	Gram negativos n=22	Gram positivos n=6	Valor de p
PSP (ng/mL)	175 (166)	167 (94)	0,914
sCD25 (ng/mL)	12,1 (7,0)	14,7 (10,9)	0,484
PCT (ng/mL)	16,1 (36,7)	11,8 (15,3)	0,786

5.9 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA MORTALIDAD HOSPITALARIA

En la Tabla 5.18 se muestran las características de los pacientes con y sin mortalidad hospitalaria.

Los pacientes que fallecen son más añosos, no observando diferencias significativas respecto al sexo ni a la toma de antibiótico previa. Tampoco hubo diferencias en relación al foco de infección, pero sí respecto a ciertas comorbilidades como la inmunosupresión y la oncología.

En cuanto a las concentraciones de los biomarcadores, la PCT no mostró diferencias significativas entre los dos grupos de pacientes; diferencia sí observada en PSP y sCD25.

Tabla 5.18. Características de los pacientes con y sin mortalidad hospitalaria. Relación de concentraciones entre ambos grupos

Variables	No fallecidos n=117 (90,7)	Fallecidos n=12 (9,3)	Valor de p
Edad [Mediana (IQR)]s	64 (46-79)	78 (67-85)	0,025
Sexo masculino (%)	69 (59,0)	7 (58,3)	0,966
Terapia ATB previa (%)	29 (24,8)	3 (25,0)	0,187
Comorbilidades [n (%)]			
Cardiopatía isquémica	25 (21,4)	3 (25,0)	0,771
HTA	54 (46,2)	3 (25,0)	0,160
ERC	18 (15,4)	2 (16,7)	0,907
EPOC	19 (16,2)	2 (16,7)	0,970
DM	29 (24,8)	4 (33,3)	0,518
Paciente oncológico	1 (0,9)	2 (16,7)	0,001
Inmunosupresión	1 (0,9)	3 (25,0)	<0,001
Foco de infección [n (%)]			0,212
Urinario	51 (43,6)	2 (16,7)	
Respiratorio	35 (29,9)	6 (50,0)	
Abdominal	16 (13,7)	3 (25,0)	
Piel y partes blandas	8 (6,8)	0 (0,0)	
Sistema nervioso central	1 (0,9)	0 (0,0)	
Bacteriemia primaria	1 (0,9)	0 (0,0)	
Otros ¹ /Desconocido	5 (5,2)	1 (8,3)	
Niveles de biomarcadores [Mediana (IRQ)]			
PSP	70 (30-178)	251 (70-389)	0,006
sCD25	7,2 (5,0-10,7)	16,4 (7,8-33,3)	0,002
PCT	0,51 (0,22-2,10)	3,7 (0,4-14,2)	0,078
Bacteriemia [n (%)]	25 (21,4)	5 (41,7)	0,113
Sepsis [n (%)]	36 (30,8)	11 (91,7)	<0,001

ATB: Antibiótico. HTA: Hipertensión arterial. ERC: Enfermedad renal crónica. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. DM: Diabetes mellitus. Los datos expresan mediana (rango intercuartílico) y n (%). ¹Malaria y endocarditis

En la Figura 5.19, Figura 5.20 y Figura 5.21 se muestran los diagramas de cajas de las concentraciones de los biomarcadores en este grupo.

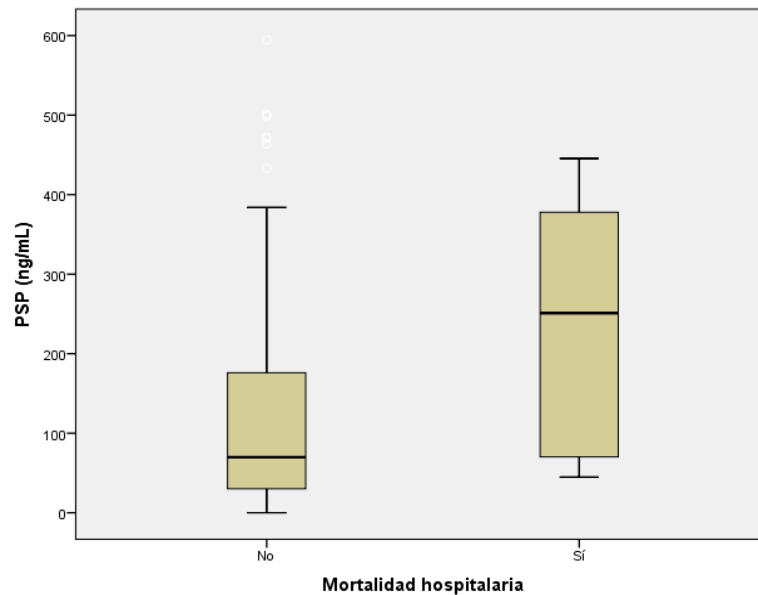


Figura 5.19. Diagrama de cajas de PSP para la predicción de mortalidad hospitalaria

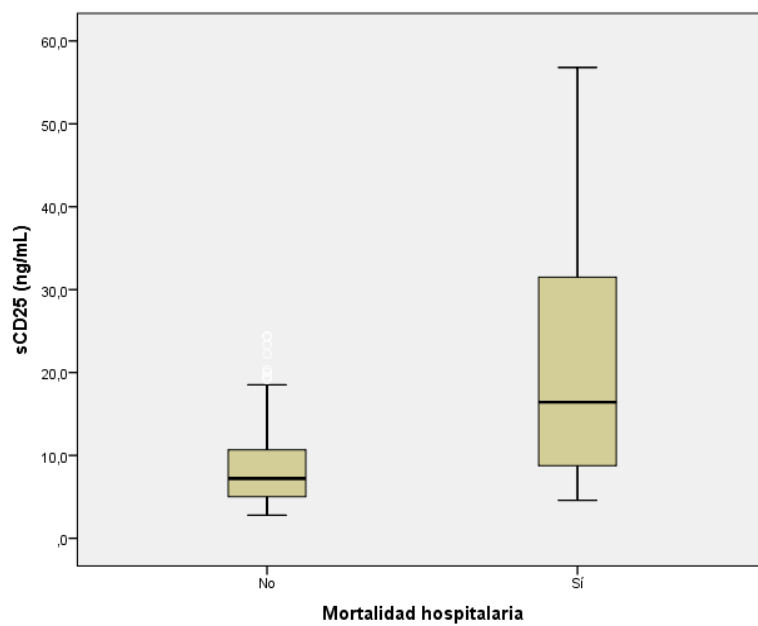


Figura 5.20. Diagrama de cajas de sCD25 para la predicción de mortalidad hospitalaria

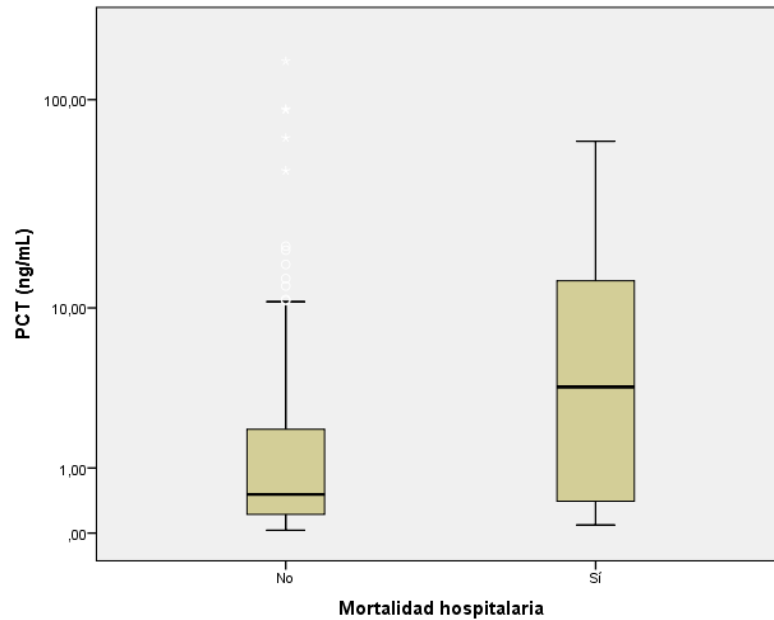


Figura 5.21. Diagrama de cajas de PCT para la predicción de mortalidad hospitalaria.

Respecto al rendimiento de los biomarcadores para la predicción de mortalidad hospitalaria sólo PSP y sCD25 presentaron un alto rendimiento, con AUC ROC superior a 0,7, y sin diferencias significativas entre ellos, como se detalla en la Tabla 5.19, junto con los puntos de corte óptimos seleccionados para optimizar sensibilidad y especificidad, así como los datos de sensibilidad, especificidad y likelihood ratios.

En la Tabla 5.20 se muestra el análisis univariante y multivariante con respecto a la mortalidad hospitalaria.

Tabla 5.19. Rendimiento de los biomarcadores para la predicción de mortalidad hospitalaria

Biomarcador	PSP (ng/mL)	sCD25 (ng/mL)	PCT (ng/mL)
AUC (IC 95%)	0,744 (0,615-0,872) p=0,006	0,776 (0,623-0,930) p=0,002	0,655 (0,472-0,838) p=0,078
Punto de corte óptimo*	203	13,5	-
Sensibilidad	66,7 (34,9-90,1)	68,9 (35,2-91,0)	-
Especificidad	79,5 (71,0-86,0)	82,0 (73,9-88,5)	-
LR+ (IC 95%)	3,25 (1,9-5,6)	3,71 (2,1-6,5)	-
LR – (IC95%)	0,42 (0,2-0,9)	0,41 (0,2-0,9)	-

*En base al índice de Youden. AUC:Área bajo la curva; IC: Intervalo de confianza; LR (+): Likelihood ratio positivo; LR (-): Likelihood ratio negativo. Comparación entre biomarcadores PSP vs. sCD25 p=0,584.

Las AUC ROC de los biomarcadores se muestran en la Figura 5.22.

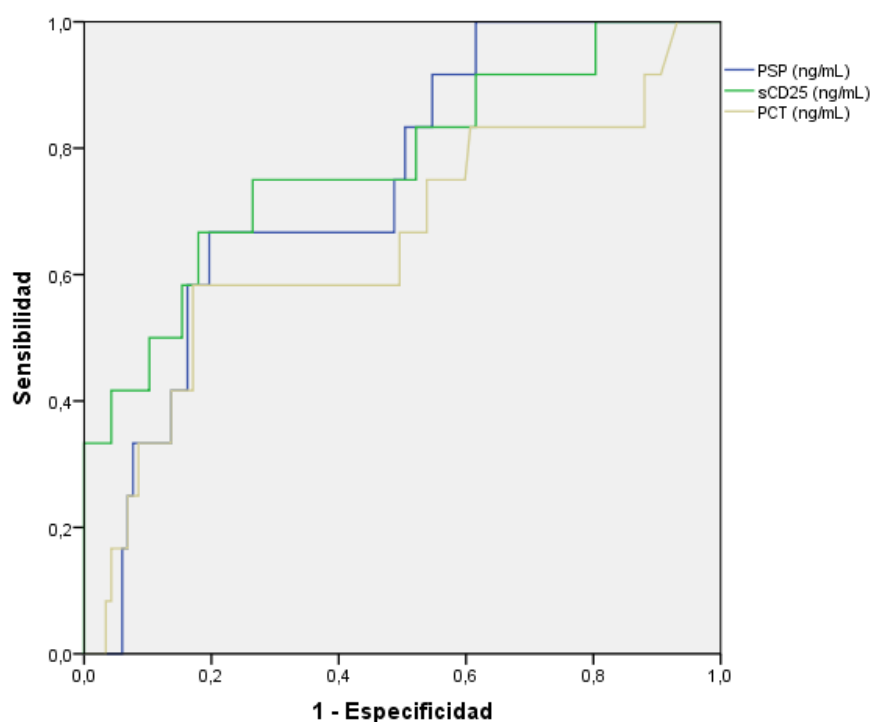


Figura 5.22. Curvas ROC de los biomarcadores para la predicción de mortalidad hospitalaria.

Tabla 5.20. Análisis univariante y multivariante con respecto a la mortalidad hospitalaria hospitalaria

Variables	Univariante OR (IC 95%)	Valor de p	Multivariante OR (IC 95%)	Valor de p
Edad	1,046 (1,003-1,091)	0,035	1,061 (0,997-1,129)	0,063
Sexo masculino	0,974 (0,292-3,251)	0,966	-	-
ATB previa	1,011 (0,256-3,99)	0,987	-	-
Foco respiratorio	2,343 (0,707-7,769)	0,164	-	-
Sepsis	24,750 (3,078-198,989)	0,003	13,949 (1,341-145,046)	0,027
Comorbilidades				
C. isquémica	1,227 (0,309-4,873)	0,772	-	-
HTA	0,389 (0,100-1,510)	0,017	-	-
ERC	1,100 (0,222-0,543)	0,907	-	-
EPOC	1,032 (0,209-5,088)	0,970	-	-
DM	1,527 (0,425-5,411)	0,520	-	-
Paciente oncológico	23,2 (1,912-278-671)	0,013	-	-
Inmunosupresión	38,667 (3,641-410,584)	0,002	30,981 (0,959-1000,946)	0,053
Biomarcadores				
PSP	1,005 (1,001-1,008)	0,010	0,998 (0,993-1,003)	0,433
sCD25	1,011 (0,990-1,033)	0,304	-	-
PCT	1,165 (1,071-1,267)	<0,001	1,124 (1,022-1,236)	0,016

OR: Odds Ratio. C. isquémica: cardiopatía isquémica. ATB: Antibioterapia.

La única variable que se comporta como predictor independiente después del análisis multivariante ajustado es el sCD25.

Para el análisis multivariante se seleccionaron como posibles factores de confusión el diagnóstico de sepsis al ingreso y la edad, ya que la edad es una variable clínica importante a considerar para establecer el pronóstico del paciente, dado el cada vez mayor número de pacientes ancianos que son atendidos en los SUH de nuestro país. Sin embargo, no seleccionamos como posibles factores de confusión la inmunosupresión ni la patología oncohematológica previa debida al bajo número de pacientes.

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

El diagnóstico precoz de infección es fundamental para limitar la morbi-mortalidad asociada a dichas patologías [7], además de contribuir a una gestión más racional de los recursos sanitarios, en relación principalmente a la solicitud de más pruebas complementarias, como las microbiológicas, y la administración de la antibioterapia más adecuada.

En la actualidad este diagnóstico se sustenta en 3 tipos de herramientas: los datos clínicos, a menudo inespecíficos, especialmente en ciertas poblaciones como los ancianos o los pacientes inmunodeprimidos, ambas con una elevada prevalencia de infección, las pruebas microbiológicas, que en el caso de los cultivos requieren de largos tiempos de respuesta que limitan su utilidad, y los biomarcadores de infección.

El área de los biomarcadores de infección es probablemente uno de los que mayor bibliografía ha generado en los últimos años. A pesar de ello sólo dos son utilizados habitualmente en la práctica clínica, la PCR y la PCT. La actualización reciente de la SSC cita ya de forma expresa la utilidad de este biomarcador en el diagnóstico de infección y sobre todo en la monitorización de la respuesta al tratamiento antibiótico. Sin embargo, la PCT presenta importantes limitaciones y no puede ser considerada un biomarcador que responda a las características exigibles a un biomarcador de infección “ideal” y más investigación debe centrarse en la búsqueda de nuevos biomarcadores que contribuyan a mejorar el diagnóstico, la estratificación del riesgo y la monitorización de la terapia. En este sentido, PSP y sCD25 han demostrado recientemente en el contexto del paciente crítico un valor diagnóstico al menos similar al de la PCT.

6.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN

El estudio INFURG-SEMES, realizado en el año 2010, evalúa la prevalencia de las enfermedades infecciosas, así como el perfil y el manejo de los pacientes con clínica de infección en los servicios de urgencias hospitalarios (SUH) españoles y valora su evolución en los últimos años al

compararlo con un estudio previo publicado hace 12 años [33]. Al comparar los resultados con este estudio previo, se observó un aumento en la prevalencia de las infecciones, con un perfil de pacientes de mayor edad, comorbilidad, factores de riesgo de microorganismos multirresistentes y síndrome séptico. En dichos estudios no se hace referencia al posible papel de los biomarcadores en el manejo del paciente infeccioso.

En la comparación de las características de nuestra cohorte con la del estudio INFURG-SEMES [33], se observan algunas similitudes y diferencias que deben ser citadas:

1. La edad media de nuestros pacientes fue de 60 (21) años, superior a la del estudio INFURG-SEMES, en el que los pacientes presentaron una edad media de 53 (23) años.
2. En nuestro estudio predominó el sexo masculino (58%), mientras que en el estudio INFURG-SEMES, el 51,2% fueron mujeres.
3. Respecto a las comorbilidades, en ambos estudios predominan las cardiopatías, asociadas o no a HTA y la diabetes.
4. En nuestra cohorte, el foco de infección más frecuente fue el urinario, que representó un 41,1% de los casos, seguido del respiratorio, en el 31,8% de los casos. Sin embargo, en el estudio INFURG-SEMES, el orden es inverso, el foco mayoritario fue el respiratorio, en el 32,2% de los casos, seguido del urinario en el 22,4%.

Estas diferencias probablemente se deban al diseño del estudio, ya que para la inclusión en el mismo fue necesaria la solicitud de hemocultivos y, a criterio del clínico y en función de la sospecha del foco de infección, la realización de otras pruebas microbiológicas. Así, en el estudio INFURG-SEMES dichas pruebas sólo fueron solicitadas en un 43,3% y sólo en el 14,6% de los pacientes se realizaron hemocultivos. Respecto al predominio del foco respiratorio, probablemente la diferencia en la incidencia de la infección por dicho foco se deba también a la necesidad de solicitar pruebas microbiológicas como criterio de inclusión, dado que en muchas de las infecciones de

origen respiratorio, como la bronquitis que representó casi el 50% de dichas infecciones, el diagnóstico generalmente se basa en los datos clínicos.

5. En el estudio INFURG-SEMES solo un 6,2% de los pacientes cumplían criterios de sepsis a su llegada a los SUH, porcentaje muy inferior al descrito en nuestro estudio. Esta diferencia con nuestro trabajo también es atribuible a diferencias en el diseño, ya que probablemente el hecho de solicitud por parte del clínico de pruebas microbiológicas implica una sospecha de mayor severidad de la infección.

En el estudio de Tudela y cols [125], realizado en un Servicio de Urgencias incluyendo pacientes con sospecha de infección bacteriana y en los que se tomaron hemocultivos, un 67,6% fueron clasificados como infección documentada o posible, porcentaje que en nuestro estudio ascendió al 82%. De forma similar al estudio INFURG-SEMES, también el foco respiratorio fue el mayoritario en el estudio de Tudela y cols, dato que no ha sido hallado en nuestro estudio.

En nuestro estudio el porcentaje de pacientes con bacteriemia fue del 23,3%, superior al 12,8% descrito por Tudela y cols [125]. En ambos estudios *E.coli* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en el hemocultivo.

En conclusión, la comparación con otras cohortes nos hace pensar que las diferencias se deben a los criterios utilizados por los clínicos para la solicitud del hemocultivo, criterio de inclusión obligatorio en nuestro estudio. El mayor porcentaje de pacientes con diagnóstico final de infección y de pacientes con bacteriemia se debe probablemente a la inclusión de pacientes con mayor severidad de la enfermedad.

6.2 RENDIMIENTO DE LOS BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN Y SEPSIS

En nuestro trabajo, y dada la aparición de la nueva definición de sepsis, nos fijamos como primer objetivo evaluar la utilidad de los biomarcadores para el diagnóstico de infección y como segundo objetivo

valorar la utilidad de dichos biomarcadores para identificar a aquellos pacientes con disfunción orgánica (SOFA ≥ 2) y que se encuadrarían dentro de la actual definición de sepsis.

En nuestro ensayo, los niveles séricos de PCT, PSP y sCD25 fueron significativamente más altos en los pacientes con infección que en aquellos en los que la sospecha inicial no fue finalmente confirmada. Los tres biomarcadores mostraron un rendimiento similar para el diagnóstico de infección y sepsis, con AUC ROC superiores a 0,8, no incrementándose de forma significativa cuando la PCT se combinaba con los otros biomarcadores. En pacientes críticos manejados en una UCI, Llewelyn y cols [115] obtuvieron rendimientos diagnósticos más altos de PCT, PSP y sCD25 en pacientes con sepsis. Esta diferencia es debida fundamentalmente a la diferencia en el diseño del estudio y los criterios utilizados para la clasificación de los pacientes, así como la mayor gravedad asociada al paciente que requiere ingreso en una UCI.

El grupo de trabajo del Dr. García de Guadiana, del Hospital Universitario de Santa Lucía, evaluó la utilidad de la PCT y un marcador emergente como la presepsina [83] empleando la definición Sepsis-3 para la clasificación de los pacientes.

Resultados similares pero también inferiores a los nuestros, se obtienen en el estudio de Guven y cols [126], en pacientes reclutados en un SU y en el cual los valores de PCT en pacientes con diagnóstico final de infección fueron significativamente más altos, obteniéndose unos valores mediana de 68,7 ng/mL (IC 95%: 15,24-120,54) vs 0,23 ng/mL (IC 95%: 0,10-0,44), con un AUC ROC de 0,88 para dicho biomarcador.

Aikawa y cols [127] en su estudio, también describen que los valores de PCT son superiores en los casos de infección vs no infección, con $p < 0,001$, y el rendimiento diagnóstico expresado en AUC ROC de dicho marcador es de 0,84, inferior al obtenido por nosotros.

Otros autores, como Klouche y cols [128], publican un AUC ROC de 0,80 para la PCT a la hora de discernir entre pacientes infectados de los no infectados en la UCI, valor que es inferior al obtenido en nuestro trabajo

(AUC ROC: 0,904); quizás las diferencias en este caso se deban a la diferencia en el tipo de pacientes incluidos en el estudio.

Un rendimiento similar a Klouche y cols es el que obtienen Koch y cols [129], con un AUC ROC de 0,780 para discriminar entre sepsis y no-sepsis en la UCI en pacientes críticos.

Sin embargo, Godnic y cols [130], obtienen un rendimiento menor, con un AUC ROC para la PCT de 0,630 para la identificación de infección bacteriana en pacientes críticos con SIRS.

En nuestro estudio, los valores de PCT fueron significativamente superiores en los pacientes sépticos vs. infección no complicada [mediana (IQR): 3,78 ng/mL (13,4) vs 0,33 ng/mL (0,72) $p<0,001$], al igual que se detectó en el estudio de Hicks y cols [131] para la PCT en su diagnóstico de sepsis [mediana (IQR): 0,32 ng/mL (1,17) vs 0,18 ng/mL (0,54) $p=0,04$].

En el SUH, Liu y cols [81], obtuvieron un valor de AUC para la PCT de 0,741 (IC 95%: 0,703-0,779), para la sepsis grave entre los pacientes infectados con SIRS, valor que es inferior al obtenido en nuestro estudio (AUC ROC: 0,82).

6.3 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA SEVERIDAD DE LA SEPSIS

En nuestro estudio, sólo los niveles de sCD25 fueron significativamente más altos, aunque de forma marginal ($p=0,049$), en los pacientes con shock séptico. Aunque los niveles de PSP y PCT fueron también más elevados en estos pacientes, la diferencia no fue estadísticamente significativa probablemente debido al bajo número de pacientes incluidos en el grupo de shock séptico ($n=10$).

El estudio de Llewelyn y cols [115], que es el único que compara los tres biomarcadores estudiados, obtiene una clara asociación entre los niveles de PCT y PSP y la severidad de la sepsis, aunque en este caso determinada según la escala SOFA, escala recientemente introducida en la nueva definición de sepsis y habitualmente utilizada para valorar el grado de disfunción orgánica en las UCIs. No se obtuvieron los mismos resultados con sCD25, y solo PSP presentó valores significativamente más

altos en los pacientes con sepsis severa [115] En cualquier caso, en la práctica clínica habitual, el concepto de sepsis severa, ahora redefinida como “sepsis” según la definición sepsis-3 [9] y de shock séptico, deberían considerarse un único grupo debido a las características similares de ambos, tanto clínicas como pronósticas [132].

En el caso de la PCT, Zhao y cols [133] en un estudio con un elevado tamaño muestral (n=652), obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en pacientes con sepsis grave respecto a aquellos con shock séptico, definidos de acuerdo a la definición sepsis-2 [4]. En nuestro estudio los pacientes con shock séptico presentaron concentraciones más elevadas de PCT, aunque no estadísticamente significativas. Probablemente estas diferencias se deban al tamaño muestral y a la selección y clasificación de los pacientes. De forma similar, otros autores también obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en función de la severidad de la sepsis, como Liu y cols [134] y Wiwatcharagoses y cols [135].

Por otro lado, el AUC ROC para la PCT en nuestro caso para el diagnóstico de la severidad de la sepsis fue de 0,649 (IC 95%: 0,456-0,842; $p < 0,001$); valores superiores se obtuvieron en el estudio de Zhao y cols, con un AUC ROC de la PCT con esta finalidad de 0,803 (IC 95%: 0,755-0,851; $p < 0,001$); también en el estudio de Liu y cols, cuya AUC ROC fue de 0,808 (IC 95%: 0,769-0,847; $p < 0,001$) y en el de Uusitalo-Seppälä y cols [136], con una AUC ROC de 0,77 (IC 95%: 0,71-0,84), estudios todos ellos en los que la clasificación de los pacientes se basó en la definición sepsis2 [4]. De cualquier modo, creemos que los biomarcadores no son herramientas útiles para distinguir entre los estadios de la sepsis para los cuales existen criterios clínicos y analíticos perfectamente definidos en las definiciones sepsis2 y sepsis3. Además en la práctica clínica habitual, el concepto de sepsis severa, ahora redefinida como “sepsis” según la definición sepsis-3 [9] y de shock séptico, deberían considerarse un único grupo debido a las características similares de ambos, tanto clínicas como pronósticas [132].

6.4 ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DEL FOCO DE INFECCIÓN EN LAS CONCENTRACIONES DE BIOMARCADORES EN PACIENTES CON INFECCIÓN

Apenas existe información sobre la influencia del foco de infección en la concentración de los biomarcadores. En nuestro estudio, no observamos diferencias significativas entre las concentraciones de los biomarcadores y los diferentes focos de infección. En el ámbito de los SUH, Ulla y cols [137], de forma similar a los hallazgos de nuestro estudio, tampoco observan diferencias significativas entre los niveles de PCT y los diferentes focos de infección. Resultados similares se obtienen con un biomarcador emergente como la presepsina.

Estos hallazgos son diferentes a los descritos en pacientes críticos con sepsis; así, en el estudio de García de Guadiana y cols (datos no publicados), tanto para la PCT como para PSP, se observaron concentraciones menores en pacientes con sepsis de origen respiratorio, de forma similar a lo descrito para otros biomarcadores emergentes como la MR-proadrenomedulina [138]. Algunos autores han sugerido que probablemente el tipo de microorganismo causante de la infección condicione más los niveles de biomarcadores como la PCT que el foco de infección en sí mismo [139].

6.5 RENDIMIENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE BIOMARCADORES PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIEMIA. INFLUENCIA DE LA ETIOLOGÍA EN LOS NIVELES DE LOS BIOMARCADORES

La detección de bacteriemia tiene a menudo un importante significado diagnóstico, terapéutico y pronóstico, por lo que su solicitud es frecuente entre los clínicos; sin embargo las indicaciones para la práctica de hemocultivos, su rendimiento clínico y su interés diagnóstico sigue siendo motivo de controversia, especialmente en lo que respecta a los SUH [140]. Los biomarcadores pueden ser una herramienta útil para optimizar la solicitud del hemocultivo.

En nuestra cohorte, los tres biomarcadores incluidos en el estudio presentaron concentraciones significativamente más elevadas en aquellos pacientes que presentaron un episodio de bacteriemia. La PCT fue el

biomarcador con mayor rendimiento para la predicción de bacteriemia, aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística con respecto a sCD25.

No es posible la comparación con otros estudios respecto al rendimiento de PSP y sCD25 como marcadores predictivos de bacteriemia. Mucho más extensa es la bibliografía de la utilidad de la PCT referida a la predicción de bacteriemia. Un rendimiento similar al nuestro fue obtenido por Laukemann y cols [141], y Tsalik y cols [142], con AUC ROC de 0,803 y 0,75 respectivamente. En un trabajo previo realizado por el grupo de investigación del Dr. García de Guadiana, en pacientes atendidos en urgencias por SRIS de posible origen infeccioso [143], la PCT presentó un AUC ROC de 0,783 para la predicción de bacteriemia, valor prácticamente idéntico al obtenido en este estudio. Sí se observó una diferencia en el punto de corte óptimo, que fue de 0,45 ng/mL en el primer estudio, aumentando hasta 0,67 ng/mL en este, probablemente debido a diferencias en el diseño, ya que en este trabajo, para evaluar la utilidad de los biomarcadores para detectar los episodios de bacteriemia, sólo se tuvieron en cuenta los pacientes en los que se demostró la presencia de infección. En cualquier caso, los puntos de corte anteriormente mencionados presentaron una sensibilidad y especificidad prácticamente idéntica, 75,7% y 64,0% para el primer estudio y 73,3% y 64,7% en éste.

Un rendimiento similar fue obtenido por García de Guadiana y cols en pacientes oncológicos con fiebre atendidos en el SUH de nuestro hospital [144], con un AUC ROC de 0,781 y en el que la conclusión más importante fue la utilidad de un punto de corte de 0,20 ng/mL para excluir la bacteriemia con VPN del 95,8%.

En una reciente revisión de Hoeboer y cols [140] incluyendo más de 16.000 pacientes y con un 20,7% de incidencia de bacteriemia, la PCT presentó un AUC ROC de 0,79 similar al valor obtenido en nuestro estudio, y aumentando hasta 0,88 en el subgrupo de pacientes ingresados en la UCI. Respecto al punto de corte en dicha revisión el punto de corte óptimo fue de 0,5 ng/mL, que presentó una sensibilidad y especificidad similares a la demostrada por el punto de corte óptimo calculado en nuestro estudio (0,67). En el ámbito del SUH en el meta-análisis de Jones y

cols la PCT alcanzó un AUC ROC de 0,84 [145], valor superior al demostrado en nuestro estudio.

Dadas las peculiaridades en cuanto a la presentación clínica de la infección y su elevada incidencia en ancianos, varios estudios han evaluado la utilidad de los biomarcadores como predictores de bacteriemia en esta población. En el ámbito de los SUH, en el estudio de Caterino y cols [146], la PCT presentó un AUC ROC de 0,70, inferior a la alcanzada en el estudio de Lai CC y cols [147] con AUC ROC de 0,817.

En nuestro estudio también hemos valorado la influencia de la etiología de la bacteriemia en los niveles de los biomarcadores, no hallándose diferencias en los niveles de éstos en los episodios causados por gérmenes Gram positivos y Gram negativos, aunque probablemente dicho análisis debe ser evaluado con precaución debido al pequeño tamaño muestral ($n=30$) y al bajo número de episodios por bacterias Gram positivas ($n=6$).

Apenas existen datos sobre la influencia de la etiología en las concentraciones de PSP en pacientes con bacteriemia. En el trabajo de García de Guadiana y cols (datos no publicados), en pacientes críticos que requirieron manejo en UCI, las concentraciones de PSP fueron mayores en bacteriemias por Gram negativos 502 ng/mL (237) vs 369 (262) en bacteriemias por Gram positivos, aunque sin alcanzar significación estadística ($p=0,078$). Estas concentraciones son más altas que las observadas en nuestros pacientes, probablemente debido a la menor severidad de la infección en los mismos. Finalmente, no disponemos de datos de estudios previos evaluando la influencia de la etiología de la bacteriemia en sCD25.

6.6 ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN DE LOS BIOMARCADORES DE INFECCIÓN CON LA MORTALIDAD HOSPITALARIA

En nuestro estudio, los pacientes que finalmente fallecieron presentaron mayor edad, mayor incidencia de patología onco/hematológica previa y de inmunosupresión. Además, como era de

esperar, la incidencia de sepsis al ingreso fue también mayor en los pacientes fallecidos.

Respecto a los biomarcadores las concentraciones de PSP y sCD25 fueron significativamente más altas en los pacientes que fallecieron, no siendo así en el caso de la PCT. Dado que no existe mucha bibliografía sobre sCD25 y PSP en este contexto, solo podemos comparar la PCT con otros estudios. Respecto a la PCT, nuestro hallazgo ha sido previamente descrito por otros autores como Masson y cols [148], en cuyo análisis, la concentración de PCT en los pacientes con infección no fue significativamente más alta ($p=0,31$) en los pacientes fallecidos. De forma similar en trabajos en pacientes que requirieron ingreso en UCI, como en el estudio de García de Guadiana (datos sin publicar), tampoco la PCT presentó concentraciones superiores al ingreso en pacientes que fallecieron, por lo que su valor pronóstico es muy controvertido en este tipo de pacientes.

Por otro lado, hay autores que describen el hallazgo contrario, como por ejemplo Zhao y cols. [149], que sí obtienen valores de PCT superiores en aquellos pacientes que fallecen. Además, de forma similar a Hong y cols, (147), en el subgrupo de pacientes con infección de foco respiratorio. En el reciente meta análisis de Arora y cols [150], la PCT medida en el primer día fue significativamente más baja en pacientes supervivientes aunque en la lectura de dicho artículo debe tenerse en cuenta que se incluyen pacientes de distintos ámbitos hospitalarios (urgencias, planta de hospitalización y UCI). Por lo tanto el valor pronóstico de la medida de PCT inicial sigue siendo un tema objeto de investigación y de hecho se ha propuesto como forma para mejorar su rendimiento pronóstico el uso de medidas seriadas [151] introduciendo el concepto de “*clearance* o aclaramiento del biomarcador”, aunque este dato no debe ser interpretado nunca de forma aislada, sino junto con datos clínicos del paciente y otras variables como las escalas de severidad y disfunción orgánica [150].

Precisamente el hallazgo relativo a las concentraciones de PCT al ingreso en nuestro estudio justifica el rendimiento no significativo de este biomarcador (AUC ROC 0,655, $p=0,078$). Tampoco en el estudio de Hanah y cols [152] la PCT tuvo un rendimiento significativo para la predicción de

mortalidad, con un AUC ROC de 0,513, que justifica en base a no haber tenido en cuenta la toma de antibióticos en el momento del ingreso, lo que podría condicionar la evolución del proceso infeccioso y en consecuencia modificar las concentraciones de los niveles de PCT. Resultados diferentes son los obtenidos por Zhao y cols [149], que obtienen un AUC ROC de 0,763, afirmando que la PCT es buen predictor de mortalidad, hallazgo similar al obtenido por Hong y cols [153], en su subgrupo de patología infecciosa con foco respiratorio, cuyo rendimiento como predictor de mortalidad es de 0,76.

En cuanto a los biomarcadores emergentes PSP y sCD25, las concentraciones de ambos fueron significativamente más altas en los pacientes fallecidos y ambos presentaron rendimientos significativos con AUC ROC de 0,744 ($p=0,006$) y 0,776 ($p=0,002$) respectivamente y sin diferencia entre ambos, no pudiendo comparar con otros estudios dada la falta de bibliografía al respecto que evalúe el valor pronóstico de estos biomarcadores en el entorno de un SUH. Si existen publicaciones relativas al valor pronóstico de PSP en pacientes críticos ingresados en UCI; así, los estudios de Que y cols [119] [154] sugieren un mayor rendimiento de este marcador como predictor de mortalidad hospitalaria en comparación a la PCT (AUC ROC 0,724 vs 0,553). Este hallazgo es similar al encontrado por García de Guadiana y cols. en pacientes con sepsis o shock séptico, definidos de acuerdo a la definición sepsis 3, datos no publicados, en los que una estrategia combinada incluyendo una escala clínica (SOFA) con dos biomarcadores lactato y PSP, alcanzó un AUC ROC de 0,866 para predecir mortalidad a los 28 días.

Otros biomarcadores emergentes como por ejemplo la adrenomedulina también presentan rendimientos elevados en la predicción de mortalidad, con AUC ROC de 0,773, superior a la de PCT (0,701) y a la escala MEDS (0,721) en el estudio de Chen y cols. [155].

Liu y cols obtienen resultados similares con la presepsina, para la predicción de mortalidad, con AUC ROC de 0,658 ($p<0,05$) [81]. Un rendimiento superior también para este biomarcador con dicha finalidad, es el obtenido por Carpio y cols [156], con un AUC ROC de 0,743.

Numerosos estudios sugieren la combinación de los biomarcadores de infección con escalas de gravedad como SOFA o MEDS, para mejorar el rendimiento de ambas variables por sí solas [157] [158].

6.7 LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones que deben ser enumeradas.

1. El estudio es unicéntrico.
2. No se realizó una estimación previa del tamaño muestral debido a la disponibilidad limitada de reactivos para la medición de PSP y sCD25, no pudiéndose incluir un número mayor de pacientes.
3. El diagnóstico de infección solo pudo ser realizado en base a criterios clínicos en aquellos pacientes en los que no se disponía de evidencia microbiológica y/o radiológica. Esto puede suponer un sesgo en la clasificación de los pacientes ya que esta fue realizada por dos especialistas. Sin embargo, consideramos que esta metodología es válida ya que ha sido previamente utilizada en estudios con objetivos similares.
4. Para la evaluación del valor pronóstico de los biomarcadores no se dispuso de ninguna escala basada en criterios clínicos como por ejemplo qSOFA, que no había sido descrita durante el periodo de realización del estudio u otras como la escala MEDS frente a las que comparar esta capacidad pronóstica. Sin embargo, y a pesar de que alguna de estas escalas ha demostrado su utilidad pronóstica en los SUH (152), en la práctica clínica diaria siguen siendo herramientas poco utilizadas, fundamentalmente por el tiempo requerido y en algunos casos las variables necesarias para su cálculo.
5. No se dispuso de medidas seriadas de los biomarcadores para valorar la evolución de los pacientes.

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. Los 2 biomarcadores estudiados presentaron buenos rendimientos en el diagnóstico de infección, tanto solos como en combinación con la PCT, aumentándose en este caso el rendimiento.
2. Los 2 biomarcadores estudiados obtuvieron buenos rendimientos en el diagnóstico de sepsis, tanto solos como en combinación con la PCT, aumentándose en este caso el rendimiento.
3. Para evaluar la severidad de la sepsis sólo el sCD25 presentó niveles más altos en los pacientes con shock séptico, aunque de forma marginal.
4. No se observó influencia entre foco de infección y las concentraciones de los biomarcadores estudiados.
5. Los 2 biomarcadores obtuvieron buenos rendimientos para la detección de bacteriemia. No se observó influencia de la etiología en las concentraciones de estos biomarcadores en estos pacientes.
6. Los 2 biomarcadores obtuvieron buenos rendimientos para la predicción de mortalidad hospitalaria.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*;101(6):1644-55.
2. Ayres SM. SCCM's new horizons conference on sepsis and septic shock. *Crit Care Med*;2013(10):864-6.
3. Levi M, van der Poll T, ten Cate H, van Deventer SJ. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia. *Eur J Clin Invest*. 1997;27(1):3-9.
4. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*. 2003;31:1250-6.
5. Casanova MPR, Peña JMG, Rodríguez V, Ortega M, Celorrio LA. Severe sepsis and septic shock. *Rev española Anestesiología y Reanimación* 2016;54(8):484-98.
6. Anggård EE. Endogenous and exogenous nitrates. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica Suppl* 1992;97:7-10.
7. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. *Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock*, 2012.
8. Borges Sa M, Candel Gonzalez F, Ferrer Roca R, Vidal Cortés P, Zaragoza Crespo R. Documento de Consenso. Código Sepsis. Recomendaciones: Amazon.es: Pablo, et al. Vidal cortés, Marcio Borges Sá: Libros [Internet]. 1.^a ed. International Marketing & Communication SA (IM&C); editor. 2014.
9. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315(8):801.
10. Antonelli M, Debacker D, Dorman T, Kleinpell R, Levy M, Rhodes A. *Surviving Sepsis Campaign Responds to Sepsis-3*. 2016.
11. Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, Linde-Zwirble WT, Marshall JC, Bion J, et al. The Surviving Sepsis Campaign: results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis. *Crit Care Med* 2010;38(2):367-74.
12. Vincent J-L, Martin GS, Levy MM. qSOFA does not replace SIRS in the definition of sepsis. *Crit Care* 2016;20(1):210.

13. Martin GS, Mannino DM, Moss M. The effect of age on the development and outcome of adult sepsis. *Crit Care Med* 2006;34(1):15-21.
14. Rafael Gonzalez de Castro. Conferencia Internacional de Consenso en Sepsis y Shock séptico ¡¡y van tres!! 2016.
15. Giamarellos-Bourboulis EJ, Tsaganos T, Tsangaris I, Lada M, Routsis C, Sinapidis D, et al. Validation of the new Sepsis-3 definitions: proposal for improvement in early risk identification. *Clin Microbiol Infect* 2017;23(2):104-109.
16. April MD, Aguirre J, Tannenbaum LI, Moore T, Pingree A, Thaxton RE, et al. Sepsis Clinical Criteria in Emergency Department Patients Admitted to an Intensive Care Unit: An External Validation Study of Quick Sequential Organ Failure Assessment. *J Emerg Med* 2017;52(5):622-631.
17. Phillip Dellinger Jean Carlet Henry Masur Herwig Gerlach Thierry Calandra Jonathan Cohen Juan Gea-Banacloche Didier Keh John C Marshall Margaret M Parker Graham Ramsay Janice L Zimmerman Jean-Louis Vincent M M Levy RM, Phillip Dellinger R, Masur H, Carlet JM, Gerlach H, members C, et al. Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2004;30:536-55.
18. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. *Lancet*. 2005;365(9453):63-78.
19. Terr AI PT. Fagocitos: Neutrófilos y macrófagos. En: *Inmunología Básica y Clínica*. 8va ed. Stites DP: Editorial Manual Moderno; 1996. p. 13-27.
20. Edward R. Sherwood, MD. PD :169-184. Current Concept of The Inflammatory response. *Am Soc Anesthesiol*. 2002;30:169-84.
21. Shoemaker, Ayres G and H. Citoquinas. En: Panamericana, editor. *Tratado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva*. 3a Edición. Buenos Aires-Argentina; 1998. p. 154-60.
22. Casanova R. Sepsis, sepsis grave y shock séptico. *Ser Med Crítica Práctica Soc Española Med Intensiva Crítica y Unidades Coronarias (SEMICYUC) Barcelona*. 2005;484:409-16.
23. Dentener MA, Bazil V, Von Asmuth EJ, Ceska M BW. Involvement of CD14 in lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha, IL-6 and IL-8 release by human monocytes and alveolar macrophages. *J Immunol*. 1993;150:2885-91.
24. Alberto Dougnac L. Sepsis y Shock Séptico. *Apuntes de Medicina Intensiva*. 2000;1-9.
25. Hurtado FJ, Nin N. The role of bundles in sepsis care. *Crit Care Clin* 2006;22(3):521-9.
26. Tracey KJ, Cerami A. Tumor necrosis factor: an updated review of its biology. *Crit Care Med* [Internet]. octubre de 1993;21(10 Suppl):S415-22.

27. Briceño I. Sepsis: Definiciones y Aspectos Fisiopatológicos. *MEDICRIT Rev Med Crítica*. 2005;2(8):164-78.
28. Opal SM, Cohen J. Clinical gram-positive sepsis: does it fundamentally differ from gram-negative bacterial sepsis? *Crit Care Med* 1999;27(8):1608-16.
29. Geroulanos S, Douka ET. Historical perspective of the word «sepsis». *Intensive Care Med* 2006;32(12):2077-2077.
30. De Costa CM. The contagiousness of childbed fever; a short history of puerperal sepsis and its treatment. *Med J Aust* 2016;177(11-12):668-71.
31. Schottmueller H. Wesen und Behandlung der Sepsis. *Inn Med*. 1914;31:257-80.
32. Gutiérrez Macías A, Martínez Ortiz de Zárate M. Infecciones en urgencias. Nuevos retos para el siglo XXI. *Emergencias*. 2000;12:77-8.
33. Zárate MMO De, Castillo JG Del, Jiménez AJ, Salmerón PP, Roca FL, Tey JMG, et al. Estudio INFURG-SEMES: epidemiología de las infecciones atendidas en los servicios de urgencias hospitalarios y evolución durante la última década. *Emergencias* 2013; 25: 368-378.
34. Bouza C, López-Cuadrado T, Saz-Parkinson Z, Amate-Blanco JM, Angus D, Poll T van der, et al. Epidemiology and recent trends of severe sepsis in Spain: a nationwide population-based analysis (2006-2011). *BMC Infect Dis*. 2014;14(1):3863.
35. Azkárate I, Choperena G, Salas E, Sebastián R, Lara G, Elósegui I, et al. Epidemiología y factores pronósticos de la sepsis grave/shock séptico. Seis años de evolución. *Med Intensiva* 2016;40(1):18-25.
36. García-Lamberechts EJ, Núñez Orantos MJ, Martín-Sánchez FJ, González del Castillo J. Epidemiología de la sepsis en los servicios de urgencias. *Med Intensiva*. 2016;40(5):322.
37. Dellinger P, Levy M, Rhodes A, Annane D, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012 Table of Contents. *ccmjournal*. 2013;4(2).
38. Franchini S, Duca A. qSOFA should replace SIRS as the screening tool for sepsis. *Crit Care*. 2016;20(1):409.
39. Vincent J-L, Vincent J, Opal S, Marshall J, Tracey K, Singer M, et al. The Clinical Challenge of Sepsis Identification and Monitoring. *PLOS Med*. 2016;13(5):e1002022.
40. Martín Sánchez FJ, González del Castillo J. Sepsis en el anciano: ¿están preparados los servicios de urgencias hospitalarios? *Emergencias Rev la Soc Española Med Urgencias y Emergencias*. 2015;27(2):73-4.
41. Caterino JM. Evaluation and Management of Geriatric Infections in the Emergency Department. *Emerg Med Clin North Am*. 2008;26(2):319-43.

42. BOE. Real decreto 1662/2000, de 29 de septiembre, sobre productos sanitarios para diagnóstico «in vitro». Boletín Of del Estado. 2009;núm. 268;:109761-75.
43. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. Crit Care. 2010;14(1):R15.
44. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther. 2001;69:89-95.
45. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. Circulation 2007;115(8):949-52.
46. Julián-Jiménez A. Biomarcadores de infección en urgencias: ¿cuáles pueden sernos útiles? Emergencias. 2012;24:343-5.
47. González-Castillo J, Candel FJ, Julián-Jiménez A. Antibióticos y el factor tiempo en la infección en urgencias. Enferm Infecc Microbiol Clin 2013;31(3):173-80.
48. Letham K, Gray A. El objetivo de las 4 horas (4-hour target) en los servicios de urgencias del National Health Service: un comentario crítico. Emergencias Rev la Soc Española Med Urgencias y Emergencias, 2012;24(1):69-72.
49. Tudela P, Prat C, Lacoma A, Mòdol JM, Domínguez J, Giménez M, et al. Biomarcadores para la predicción en urgencias de infección bacteriana, bacteriemia y gravedad. Emergencias. 2012;24(5):348-56.
50. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. BMJ. 2016;353.
51. Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. N Engl J Med [Internet]. 2013;369(9):840-51.
52. Tupchong K, Koyfman A, Foran M, Levy MM, al. et, Angus DC, et al. Sepsis, severe sepsis, and septic shock: A review of the literature. African J Emerg Med 2015;5(3):127-35.
53. Marshall JC, Vincent J-L, Fink MP, Cook DJ, Rubenfeld G, Foster D, et al. Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25-26, 2000. Crit Care Med 2003;31(5):1560-7.
54. Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin in bacterial infections--hype, hope, more or less? Swiss Med Wkly 2005;135(31-32):451-60.
55. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, Gencay MM, Huber PR, Tamm M, et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. Lancet 2004;363(9409):600-7.
56. Henriquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. Biomed Res Int. 2014;2014.
57. Abbas N, Bednar I, Mix E, Marie S, Paterson D, Ljungberg A, et al. Up-regulation

- of the inflammatory cytokines IFN-gamma and IL-12 and down-regulation of IL-4 in cerebral cortex regions of APP(SWE) transgenic mice. *J Neuroimmunol* 2002;126(1-2):50-7.
58. Jamilloux Y, Bourdonnay E, Gerfaud-Valentin M, Py BF, Lefeuvre L, Barba T, et al. Interleukin-1, inflammasome and autoinflammatory diseases. *Rev Med Interne* 2016; pii: S0248-8663(16)30472-6.
59. De Revisión A, Beatriz D, Cisneros G, Dolores D, Beltrán C, Elvia M, et al. Citocinas y otras moléculas involucradas en sepsis y en pacientes con sepsis y complicaciones de neutropenia. *Alergia, Asma e Inmunologías pediátricas*. 2004;13(1):15-23.
60. Damas P, Canivet JL, de Groote D, Vrindts Y, Albert A, Franchimont P, et al. Sepsis and serum cytokine concentrations. *Crit Care Med* 1997;25(3):405-12.
61. Rintala E, Pulkki K, Mertsola J, Nevalainen T, Nikoskelainen J. Endotoxin, interleukin-6 and phospholipase-A2 as markers of sepsis in patients with hematological malignancies. *Scand J Infect Dis* 1995;27(1):39-43.
62. Barriere SL, Lowry SF. An overview of mortality risk prediction in sepsis. *Crit Care Med* 1995;23(2):376-93.
63. Julián-Jiménez A, Candel-González FJ, González Del Castillo J. Utilidad de los biomarcadores de inflamación e infección en los servicios de urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(3):177-90.
64. Sancho Rodríguez N. Estudio de biomarcadores de sepsis en sangre de cordón. Determinación de biomarcadores en pacientes con sospecha de sepsis neonatal. Publicia; 2014.
65. Khialani AD, Espinosa MR. Proteína C reactiva y enfermedad cardiovascular. *Ed Cont Lab Clín*. 13:59-75.
66. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*. 1999;7(2):169-77.
67. Colmenero AM, Pablo LR De, Nieto P, Martín S, Sierra D, Mateos LS, et al. Apuntes de Ciencia Marcadores de sepsis : Situación actual. 2014;1-13.
68. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *J Emerg Med*. 1999 Nov-Dec;17(6):1019-25.
69. GP C. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care Med*. 2004;8(4):234-42.
70. Rey Galán C. Biomarcadores de infección bacteriana grave: ¿ayudan en la práctica clínica? *An Pediatría* 2016;84(5):247-8.
71. Salinas La Casta M, López Garrigós M, Uris Selles J, Leiva Salinas C. Variabilidad en la oferta y en la solicitud de determinaciones de laboratorio en pacientes de

- servicios de urgencias hospitalarios. *Emergencias Rev la Soc Española Med Urgencias y Emergencias*, 2014;26(6):450-8.
72. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet (London, England)* 1993;341(8844):515-8.
73. Linscheid P, Seboek D, Nylen ES, Langer I, Schlatter M, Becker KL, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology*. 2003;144(12):5578-84.
74. Domínguez-Comesaña E, López-Gómez V, Estevez-Fernández SM, Mariño Padín E, Ballinas-Miranda J, Carrera-Dacosta E, et al. Procalcitonin and C-reactive protein as early indicators of postoperative intra-abdominal infection after surgery for gastrointestinal cancer. *Cirugía española*. 2014;92(4):240-6.
75. Meisner M, Tschaikowsky K, Schmidt J et al. Procalcitonin (PCT) —Indications for a new diagnostic parameter of severe bacterial infection and sepsis in transplantation, immunosuppression and cardiac assist devices. *Cardiovasc Eng*. 1996;1:67.
76. Brunkhorst FM, Forycki ZF, Beier W et al. Procalcitonin immunoreactivity in severe human shock. *Int Care Med*. 1995;21(Suppl 1):12.
77. Hedlund J, Hansson LO. Procalcitonin and C-reactive protein levels in community-acquired pneumonia: Correlation with etiology and prognosis. *Infection*. 2000;28(2):68-73.
78. Ma J, Wang S, Chen D, Duan J, Li C, Li G. The prognostic value of serum procalcitonin on severity of illness in non-sepsis critically ill patients. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2016 Aug;28(8):688-93.
79. Prat Aymerich Cristina, Domínguez Benitez Jose. PROCALCITONINA Y MARCADORES DE INFECCIÓN. *Ed Cont Lab Clín*. 2004;7:38-43.
80. Kojika M, Takahashi G, Matsumoto N, Kikkawa T, Hoshikawa K, Shioya N, et al. Serum levels of soluble CD14 subtype reflect the APACHE II and SOFA Scores. *Med Postgraduates*. 2010;48(1):46-50.
81. Liu B, Chen Y-X, Yin Q, Zhao Y-Z, Li C-S. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Crit Care* 2013;17(5):R244.
82. Miyata M, Sato N, Takahashi G, Takahashi M, Endo S, Shirakawa K. The utility of the soluble CD14 subtype for diagnosis of sepsis, the examination of the simple diagnostic kit. *J Iwate med Assoc*. 2007;59:325-31.
83. Romualdo LG de G, Torrella PE, González MV, Sánchez RJ, Holgado AH, Freire AO, et al. Diagnostic accuracy of presepsin (soluble CD14 subtype) for prediction of bacteremia in patients with systemic inflammatory response syndrome in the

- Emergency Department. *Clin Biochem*. 2014;47(7-8):505-8.
84. Kweon OJ, Choi JH, Park SK, Park AJ. Usefulness of presepsin (sCD14 subtype) measurements as a new marker for the diagnosis and prediction of disease severity of sepsis in the Korean population. *J Crit Care*. 2014;29(6):965-70.
 85. Sato M, Takahashi G, Shibata S, Onodera M, Suzuki Y, Inoue Y, et al. Clinical Performance of a New Soluble CD14-Subtype Immunochromatographic Test for Whole Blood Compared with Chemiluminescent Enzyme Immunoassay: Use of Quantitative Soluble CD14-Subtype Immunochromatographic Tests for the Diagnosis of Sepsis. *PLoS One*. 2015;10(12):e0143971.
 86. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;192:553-60.
 87. Ishimitsu T, Kojima M, Kangawa K, Hino J, Matsuoka H, Kitamura K. Genomic structure of human adrenomedullin gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;203:631-9.
 88. Hinson J, Kapas S, Smith D. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev*. 2000;21:138-67.
 89. A C, J M-M. Adrenomedullin: a new vasoactive peptide. *Nefrologia*. 2001;21:16-25.
 90. Ornan D, Chaudry I, Wang P. Saturation of adrenomedullin receptors plays an important role in reducing pulmonary clearance of adrenomedullin during the late stage of sepsis. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1586:299-306.
 91. Lewis L, Smith M, Yandle T, Richards A, Nicholls M. Adrenomedullin(1-52) measured in human plasma by radioimmunoassay: plasma concentration, adsorption, and storage. *Clin Chem*. 1998;44:571-7.
 92. Cavallazzi R, El-Kersh K, Abu-Atherah E, Singh S, Loke YK, Wiemken T, et al. Midregional proadrenomedullin for prognosis in community-acquired pneumonia: A systematic review. *Respir Med*. 2014;108(11):1569-80.
 93. España PP, Capelastegui A, Mar C, Bilbao A, Quintana JM, Diez R, et al. Performance of pro-adrenomedullin for identifying adverse outcomes in community-acquired pneumonia. *J Infect*. 2015;70(5):457-66.
 94. Andaluz-Ojeda D, Cicuéndez R, Calvo D, Largo E, Nogales L, Muñoz MF, et al. Sustained value of proadrenomedullin as mortality predictor in severe sepsis. *J Infect*. 2015;71(1):136-9.
 95. Valenzuela Sanchez F, Valenzuela Mendez B, Bohollo de Austria R, Rodríguez Gutierrez J, Jaen Franco M, González García M, et al. Diagnostic and prognostic usefulness of Mid-Regional Pro-Aadrenomedullin levels in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med Exp*. 2015;3(Suppl 1):A306.
 96. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies

- inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature*. 2001;410(6832):1103-7.
97. Gibot S, Massin F. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells 1: an anti-inflammatory mediator? *Intensive Care Med*. 2006;32(2):185-7.
 98. J J, H T, C W, S H. Diagnostic value of the soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in bacterial infection: a meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2009;35(4):587-95.
 99. Latour-Pérez J, Alcalá-López A, García-García MA, Sánchez-Hernández JF, Abad-Terrado C, Viedma-Contreras JA, et al. Valor pronóstico de los niveles plasmáticos de sTREM-1 en pacientes con sepsis: Un estudio de cohortes. *Med Intensiva*. 2010;34(4):231-6.
 100. Gibot S, Cravoisy A, Kolopp-Sarda M-N, Béné M-C, Faure G, Bollaert P-E, et al. Time-course of sTREM (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells)-1, procalcitonin, and C-reactive protein plasma concentrations during sepsis. *Crit Care Med*. 2005;33(4):792-6.
 101. Phua J, Koay ESC, Zhang D, Lee KH. How well do serum sTREM-1 measurements prognosticate in septic shock? *Anaesth Intensive Care*. 2008;36(5):654-8.
 102. Valor diagnóstico de la inmunoglobulina sTREM-1 en la neumonía de los pacientes ventilados mecánicamente. *Med Intensiva*. 2004;28(7):386-9.
 103. Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J. suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers*. 2009;27(3):157-72.
 104. Ploug M, Rønne E, Behrendt N, Jensen AL, Blasi F, Danø K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J Biol Chem*. 1991;266(3):1926-33.
 105. Eugen-Olsen J. suPAR - a future risk marker in bacteremia. *J Intern Med*. 2011;270(1):29-31.
 106. de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, Struck J, Morgenthaler NG, Papassotiriou J, et al. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med*. 2008;34(3):518-22.
 107. Gustafsson A, Ljunggren L, Bodelsson M, Berkestedt I. The prognostic value of suPAR compared to other inflammatory markers in patients with severe sepsis. *Biomark Insights*. 2012;7:39-44.
 108. Schlapbach LJ, Graf R, Woerner A, Fontana M, Zimmermann-Baer U, Glauser D, et al. Pancreatic stone protein as a novel marker for neonatal sepsis. *Intensive Care Med*. 2013;39(4):754-63.
 109. Yu D, Kim J, Park C, Park J. Serial Changes of CD4 + CD25 + FoxP3 + Regulatory T Cell in Canine Model of Sepsis Induced by Endotoxin. *J Vet Med Sci*. 2014;25:4-7.

110. Matera G, Puccio R, Giancotti A, Quirino A, Pulicari M, Zicca E, et al. Impact of interleukin-10, soluble CD25 and interferon- γ on the prognosis and early diagnosis of bacteremic systemic inflammatory response syndrome: a prospective observational study. *Crit Care*. 2013;17(2):R64.
111. Keel M, Härter L, Reding T, Sun L-K, Hersberger M, Seifert B, et al. Pancreatic stone protein is highly increased during posttraumatic sepsis and activates neutrophil granulocytes. *Crit Care Med*. 2009;37(5):1642-8.
112. Schuetz P, Müller B. Procalcitonin in critically ill patients: time to change guidelines and antibiotic use in practice. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(7):758-60.
113. Rass AA, Talat MA, Arafa MA, El-Saadany HF, Amin EK, Abdelsalam MM, et al. The Role of Pancreatic Stone Protein in Diagnosis of Early Onset Neonatal Sepsis. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1035856.
114. Keim V, Iovanna JL, Dagorn JC. The acute phase reaction of the exocrine pancreas. Gene expression and synthesis of pancreatitis-associated proteins. *Digestion* . 1994;55(2):65-72.
115. Llewelyn MJ, Berger M, Gregory M, Ramaiah R, Taylor AL, Curdt I, et al. Sepsis biomarkers in unselected patients on admission to intensive or high-dependency care. *Crit Care* 2013;17(2):R60.
116. Graf R, Schiesser M, Reding T, Appenzeller P, Sun L-K, Fortunato F, et al. Exocrine meets endocrine: pancreatic stone protein and regenerating protein--two sides of the same coin. *J Surg Res* 2006;133(2):113-20.
117. Jin CX, Hayakawa T, Ko SBH, Ishiguro H, Kitagawa M. Pancreatic Stone Protein/Regenerating Protein Family in Pancreatic and Gastrointestinal Diseases. *Intern Med*. 2011;50:1507-16.
118. Motoo Y, Satomura Y, Mouri I, Mouri H, Ohtsubo K, Sakai J, et al. Serum levels of pancreatitis-associated protein in digestive diseases with special reference to gastrointestinal cancers. *Dig Dis Sci* 1999;44(6):1142-7.
119. Que Y-A, Delodder F, Guessous I, Graf R, Bain M, Calandra T, et al. Pancreatic stone protein as an early biomarker predicting mortality in a prospective cohort of patients with sepsis requiring ICU management. *Crit Care*. 2012;16(4):R114. t
120. Taylor AL, Llewelyn MJ. Superantigen-Induced Proliferation of Human CD4+CD25- T Cells Is Followed by a Switch to a Functional Regulatory Phenotype. *J Immunol* 2010;185(11):6591-8.
121. Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann Intern Med* 1990;113(8):619-27.
122. Russell SE, Moore AC, Fallon PG, Walsh PT. Soluble IL-2R α (sCD25) exacerbates autoimmunity and enhances the development of Th17 responses in mice. *PLoS One* 2012;7(10):e47748.

123. Saito K, Wagatsuma T, Toyama H, Ejima Y, Hoshi K, Shibusawa M, et al. Sepsis is characterized by the increases in percentages of circulating CD4+CD25+ regulatory T cells and plasma levels of soluble CD25. *Tohoku J Exp Med*. 2008;216(1):61-8.
124. Robert J Forster, Bertoncetto P, Keyes TE. Electrogenenerated Chemiluminescence. *Annu Rev Anal Chem*. 2009;2:359-85.
125. Tudela P, Lacom A, Prat C, Mòdol JM, Giménez M, Barallat J, et al. Predicción de bacteriemia en los pacientes con sospecha de infección en urgencias. *Med Clin (Barc)* 2010;135(15):685-90.
126. Guven H, Altintop L, Baydin A, Esen S, Aygun D, Hokelek M, et al. Diagnostic value of procalcitonin levels as an early indicator of sepsis. *Am J Emerg Med* 2002;20(3):202-6.
127. Aikawa N, Fujishima S, Endo S, Sekine I, Kogawa K, Yamamoto Y, et al. Multicenter prospective study of procalcitonin as an indicator of sepsis. *J Infect Chemother* 2005;11(3):152-9.
128. Klouche K, Cristol JP, Devin J, Gilles V, Kuster N, Larcher R, et al. Diagnostic and prognostic value of soluble CD14 subtype (Presepsin) for sepsis and community-acquired pneumonia in ICU patients. *Ann Intensive Care*. 2016;6(1):59.
129. Koch A, Voigt S, Kruschinski C, Sanson E, Dückers H, Horn A, et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor is stably elevated during the first week of treatment in the intensive care unit and predicts mortality in critically ill patients. *Crit Care*. 2011;15(1):R63.
130. Godnic M, Stubjar D, Skvarc M, Jukic T, Jukic T. Diagnostic and prognostic value of sCD14-ST—presepsin for patients admitted to hospital intensive care unit (ICU). *Wien Klin Wochenschr* 2015;127(13-14):521-7.
131. Hicks CW, Engineer RS, Benoit JL, Dasarathy S, Christenson RH, Peacock WF. Procalcitonin as a biomarker for early sepsis in the emergency department. *Eur J Emerg Med* 2014;21(2):112-7.
132. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29(7):1303-10.
133. Zhao Y, Li C. Diagnostic value of a combination of biomarkers in patients with sepsis and severe sepsis in emergency department. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2014;26(3):153-8.
134. Liu H, Liu G, Ma Q. Value of procalcitonin in the early diagnosis of sepsis in Department of Emergency. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2012;24(5):298-301.
135. Wiwatcharagoses K, Kingnakom A. Procalcitonin under Investigation as a Means of Detecting Severe Sepsis, Septic Shock and Bacteremia at Emergency

- Department, Rajavithi Hospital. *J Med Assoc Thai* 2016;99 Suppl 2:S63-8.
136. Uusitalo-Seppälä R, Koskinen P, Leino A, Peuravuori H, Vahlberg T, Rintala EM. Early detection of severe sepsis in the emergency room: Diagnostic value of plasma C-reactive protein, procalcitonin, and interleukin-6. *Scand J Infect Dis* 2011;43(11-12):883-90.
 137. Ulla M, Pizzolato E, Lucchiari M, Loiacono M, Soardo F, Forno D, et al. Diagnostic and prognostic value of presepsin in the management of sepsis in the emergency department: a multicenter prospective study. *Crit Care* 2013;17(4):R168.
 138. Cicuendez R, Nogales L, Bueno A, Gonzalez De Zarate S, Calvo D, Andres C, et al. Prognostic value of proadrenomedulin in severe sepsis and septic shock is independent of etiology and focus of infection. *Intensive Care Med Exp*. 2015;3(Suppl 1):A518.
 139. Yan ST, Sun LC, Jia HB, Gao W, Yang JP, Zhang GQ. Procalcitonin levels in bloodstream infections caused by different sources and species of bacteria. *Am J Emerg Med* 2017;35(4):579-83.
 140. Hoeboer SH, van der Geest PJ, Nieboer D, Groeneveld ABJ. The diagnostic accuracy of procalcitonin for bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21(5):474-81.
 141. Laukemann S, Kasper N, Kulkarni P, Steiner D, Rast AC, Kutz A, et al. Can We Reduce Negative Blood Cultures With Clinical Scores and Blood Markers? Results From an Observational Cohort Study. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(49):e2264.
 142. Tsalik EL, Jaggers LB, Glickman SW, Langley RJ, van Velkinburgh JC, Park LP, et al. Discriminative Value of Inflammatory Biomarkers for Suspected Sepsis. *J Emerg Med* 2012;43(1):97-106.
 143. de Guadiana Romualdo LG, Torrella PE, Acebes SR, Otón MDA, Sánchez RJ, Holgado AH, et al. Diagnostic accuracy of presepsin (sCD14-ST) as a diagnostic marker of infection and sepsis in the emergency department. *Clin Chim Acta* 2016; 464:6-11.
 144. Jiménez Santos E, Hernando Holgado A, García de Guadiana Romualdo, L Viqueira González M, Cerezuela Fuentes P, Español Morales I. Utilidad de la procalcitonina para predecir bacteriemia en pacientes oncológicos con fiebre. *Rev del Lab clínico*. 2014;7(4):127-33.
 145. Jones AE, Fiechtl JF, Brown MD, Ballew JJ, Kline JA. Procalcitonin Test in the Diagnosis of Bacteremia: A Meta-analysis. *Ann Emerg Med* 2007;50(1):34-41.
 146. Caterino JM, Scheatzle MD, Forbes ML, D'Antonio JA. Bacteremic Elder Emergency Department Patients: Procalcitonin and White Count. *Acad Emerg Med* 2004;11(4):393-6.
 147. Lai C-C, Chen S-Y, Wang C-Y, Wang J-Y, Su C-P, Liao C-H, et al. Diagnostic Value

- of Procalcitonin for Bacterial Infection in Elderly Patients in the Emergency Department. *J Am Geriatr Soc* 2010;58(3):518-22.
148. Masson S, Caironi P, Spanuth E, Thomae R, Panigada M, Sangiorgi G, et al. Presepsin (soluble CD14 subtype) and procalcitonin levels for mortality prediction in sepsis: data from the Albumin Italian Outcome Sepsis trial. *Crit Care*. 2014 ;18(1):R6.
149. Zhao R, Dong S. Clinical value of serum endocan and procalcitonin in early diagnosis and prognosis evaluation of sepsis. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2017;29(4):321-6.
150. Arora S, Singh P, Singh PM, Trikha A. Procalcitonin Levels in Survivors and Nonsurvivors of Sepsis. *Shock* 2015;43(3):212-21.
151. Magrini L, Travaglino F, Marino R, Ferri E, De Berardinis B, Cardelli P, et al. Procalcitonin variations after Emergency Department admission are highly predictive of hospital mortality in patients with acute infectious diseases. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17 Suppl 1:133-42.
152. Kim H, Hur M, Moon H-W, Yun Y-M, Di Somma S, GREAT Network on behalf of G. Multi-marker approach using procalcitonin, presepsin, galectin-3, and soluble suppression of tumorigenicity 2 for the prediction of mortality in sepsis. *Ann Intensive Care*. 2017;7(1):27.
153. Hong DY, Park SO, Kim JW, Lee KR, Baek KJ, Na JU, et al. Serum Procalcitonin: An Independent Predictor of Clinical Outcome in Health Care-Associated Pneumonia. *Respiration*. 2016;92(4):241-51.
154. Que Y-A, Guessous I, Dupuis-Lozeron E, de Oliveira CRA, Oliveira CF, Graf R, et al. Prognostication of Mortality in Critically 111 Patients With Severe Infections. *Chest*. 2015;148(3):674-82.
155. Chen Y-X, Li C-S. Prognostic value of adrenomedullin in septic patients in the ED. *Am J Emerg Med* 2013;31(7):1017-21.
156. Carpio R, Zapata J, Spanuth E, Hess G. Utility of presepsin (sCD14-ST) as a diagnostic and prognostic marker of sepsis in the emergency department. *Clin Chim Acta* 2015;450:169-75.
157. Zhao Y, Li C, Jia Y. Evaluation of the Mortality in Emergency Department Sepsis score combined with procalcitonin in septic patients. *Am J Emerg Med*. 2013;31(7):1086-91.
158. Lee C-C, Chen S-Y, Tsai C-L, Wu S-C, Chiang W-C, Wang J-L, et al. Prognostic value of mortality in emergency department sepsis score, procalcitonin and c-reactive protein in patients with sepsis at the emergency department. *Shock*. 2008 Mar;29(3):322-7.

ANEXOS



INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

D^a Laly Gómez Sannicolás, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Sta. M^a del Rosell, Área II de Salud del Servicio Murciano de Salud:

CERTIFICA:

Que este CEIC ha recibido la documentación para la realización del estudio observacional:

TÍTULO: Valor diagnóstico de nuevos biomarcadores para el manejo de la sepsis en un servicio de urgencias hospitalario: Preactic Stone Protein (PSP), soluble CD25 e Interleucina 27

Investigador/es ámbito de tutela Área II: D. Luis García de Guadiana Romualdo, S^o ACL del HGUSL

Tras verificar la documentación presentada y en base a las Directrices de estudios retrospectivos observacionales, este comité **da su visto bueno y lo pone en conocimiento de la autoridad pertinente.**

Lo que firmo en Cartagena, a 11 de noviembre 2013



Edo. D^a Laly Gómez Sannicolás



Pancreatic stone protein and soluble CD25 for infection and sepsis in an emergency department

Luis García de Guadiana-Romualdo*, Mario Berger[†], Enrique Jiménez-Santos*, Sergio Rebollo-Acebes[‡], Roberto Jiménez-Sánchez[‡], Patricia Esteban-Torrella*, Ana Hernando-Holgado*, Alejandro Ortín-Freire[‡] and María Dolores Albaladejo-Otón*

*Clinical Chemistry Laboratory, Santa Lucía Hospital, Cartagena, Spain, [†]Philips Handheld Diagnostics, Eindhoven, the Netherlands, [‡]Intensive Care Unit, Santa Lucía Hospital, Cartagena, Spain

ABSTRACT

Background Infection is a common problem in emergency departments (EDs) and is associated with high mortality, morbidity and costs. Identifying infection in ED patients can be challenging. Biomarkers can facilitate its diagnosis, enabling an early management and improving outcomes. In the critical care setting, two emerging biomarkers, pancreatic stone protein (PSP) and soluble CD25 (sCD25), have demonstrated to be useful for diagnosis of sepsis. We aimed to assess the diagnostic value of these biomarkers, in comparison with procalcitonin (PCT), for infection and sepsis in an ED population with suspected infection.

Materials and methods Through a prospective, observational study, we investigated the utility of serum PCT, PSP and sCD25 levels, measured on admission, for diagnosis of infection and sepsis, defined according to the recently updated for sepsis (Sepsis-3), in patients presenting to the ED for suspected infection. Diagnostic accuracy was evaluated by using receiver operating characteristic curves (ROC) analysis.

Results Of the 152 patients enrolled in this study, 129 had a final diagnosis of infection, including 82 with noncomplicated infection and 47 with sepsis. Median PCT, PSP and sCD25 levels were significantly higher in patients with infection and sepsis. The ROC curve analysis revealed a similar diagnostic accuracy for infection (ROC area under the curve (AUC) PCT: 0.904; sCD25: 0.869 and PSP: 0.839) and for sepsis (ROC AUC: PCT: 0.820; sCD25: 0.835 and PSP: 0.872).

Conclusions Pancreatic stone protein and sCD25 perform well as infection and sepsis biomarkers, with a similar performance than PCT, in ED patients with suspected infection. Further larger studies investigating use of PSP and sCD25 are needed.

Keywords Emergency department, infection, pancreatic stone protein, procalcitonin, sepsis, soluble CD25.

Eur J Clin Invest 2017; 47 (4): 297–304

Introduction

Infectious diseases are a major health problem and are associated with high mortality and morbidity in all areas of health care, including emergency department (ED) [1]. Besides, infection has a great impact on the need for microbiological tests and antibiotic treatments, involving increased human and economic cost. Although in most individuals the host response is adequate to deal with the potential threat, in some cases, infection gives rise to an inappropriate host response, and when this results in the development of organ dysfunction, the term 'sepsis' is used according to the updated definition for sepsis (Sepsis-3) [2]. Despite advances in antibiotic therapy and cardiovascular and respiratory support, sepsis represents a major cause of morbidity and mortality [3]. Guidelines by the

Surviving Sepsis Campaign (SCC) emphasize the importance of an early diagnosis and appropriate therapy in the initial hours because both have a significant impact on outcomes [4]. Delays in the beginning of the antimicrobial treatment are associated with worse prognosis [5,6]. Therefore, clinicians are faced with two primary challenges: first, identifying infection and targeting patients who should be given antibiotic therapy and second, assessing the severity of disease.

In the clinical practice, diagnosis of infection is based on the onset of characteristic clinical signs and symptoms of a host response, an increase in inflammatory and/or infection biomarkers levels and the results of cultures and other microbiological tests [7]. However, different aetiologies often exhibit overlap in the clinical presentation, and classic signs and symptoms of infection are not always present, especially in

patients with multiple comorbidities, such as elderly population [8] or immunocompromised patients [9]. Moreover, culture-dependent diagnosis of infection is slow. Therefore, biomarkers may provide a more rapid means to rule-in or rule-out infection and to make a decision about the need for antibiotics and to assess the need for admission to ward or intensive care unit (ICU) [7].

In 2010, Pierrakos and Vincent [10] identified 178 sepsis biomarkers evaluated in 3370 studies; however, only two of them have been widely used in clinical practice: C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT). CRP has been in use for over 20 years. Despite its sensitivity for infection, it is not very specific, unless high cut-off levels are used which in turn reduces sensitivity. PCT has been identified as having the highest performance among biomarkers for the diagnosis and prognosis of sepsis [11], although the evidence presented by Tang *et al.* [12] does not support its widespread use for sepsis diagnosis. PCT has some limitations because its elevations are not as specific for infection as was once believed [13]. This biomarker may be elevated in a number of disorders in the absence of infection, especially following surgery and trauma [14]. Moreover, false-negative results can be observed in the early course of infection [15]. Wacker *et al.* [16] concluded that PCT cannot be recommended as the single definitive test for sepsis diagnosis. There remains a need for better infection biomarkers.

Pancreatic stone protein (PSP) and soluble CD25 (sCD25) have recently emerged as promising sepsis biomarkers. PSP, also known as lithostathine and regenerating protein (PSP/reg), is a lectin-binding protein [17]. It is constitutively secreted by pancreatic acinar cells into pancreatic juice along with zymogens, and it is also secreted by subsets of intestinal and gastric cells [18]. Its physiological role is not clear. PSP levels increase in acute and chronic pancreatitis, chronic renal failure and gastrointestinal malignancy [19,20]. Studies focusing on infection and inflammation postulated that PSP would be a pro-inflammatory mediator that binds and activates neutrophils, thereby acting as an acute-phase protein that responds to injury during the early phase of infection [21]. Soluble CD25 (sCD25) is the soluble form of CD25 which is shed into the blood. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells (Treg cells) play an important role in the immune response, exerting a pronounced anti-inflammatory effect through contact-mediated direct inhibition of other immune cells and produce high levels of sCD25, interleukin-4 and IL-10 [22]. Sepsis is associated with the increased percentages of Treg cells and elevated plasma levels of sCD25 [23].

Recent studies have demonstrated that PSP and sCD25 performed well to identify sepsis [24] and to predict the mortality in ICU septic patients [25,26]. However, the performance of

infection biomarkers may vary between different clinical settings, such as the ED, ICU and ward [15]. Therefore, in this study, we aimed to evaluate the diagnostic utility of two emergent biomarkers, PSP and sCD25, in comparison with a traditional biomarker, PCT, for diagnosis of infection and sepsis, defined according to recently published Sepsis-3 definition [2], in an unselected cohort of patients admitted to ED for suspected infection.

Materials and methods

Study design and population

This observational prospective single-centre study was conducted at the ED of Hospital General Universitario Santa Lucía of Cartagena, Spain, from October to November 2013. It was approved by the local ethics committee. Informed consent was obtained from all participating patients or from their close relatives.

All consecutive adult (≥ 14 years) patients fulfilling all the following inclusion criteria: (i) suspicion of infection, as judged by the ED physician on admission, and (ii) clinical request of body fluid cultures (blood culture and others, according to suspected source of infection) drawn at the time of admission, were included in the study. Exclusion criteria were the following: (i) age less than 14 years old, (ii) evidence of an immunocompromised stage (e.g. malignancy), terminal stage of disease, and (iii) pregnancy.

Classification of patients

Infection was defined by using both clinical and laboratory patients' data recorded in ED and hospital documentation. All final patient classifications were determined by using a majority rule among two physicians, all blinded to biomarker results. Patients designated as 'infected' included all patients with clinically relevant positive bacterial microbiological cultures collected within 48 h of enrolment. Of note, those patients with strong evidence for infection in the absence of positive cultures were also included in the 'infected' designation. These cases included such findings as radiographic evidence (computed tomography scan, chest X-ray, etc.) or physical examination findings strongly suggesting bacterial infection in the absence of positive cultures. All other subjects were classified as 'noninfected'.

For further classification of infected patients, Sepsis-3 definitions were used [2]. Organ dysfunction was identified as an acute change in sequential [sepsis-related] organ failure assessment (SOFA) score of ≥ 2 points or more resulting from infection. Septic shock was defined as sepsis with persisting hypotension requiring vasopressors to maintain mean arterial pressure ≥ 65 mm Hg and having a serum lactate level > 2 mM

despite adequate volume resuscitation [2]. According to these criteria, infected patients were classified into 'sepsis' and 'noncomplicated infection' subgroups.

Sampling and laboratory analysis

Venous blood samples were collected on admission to ED for white blood count, neutrophil count, blood chemistry and coagulation tests, as required, and analysed in a central laboratory within 2 h. Leftover serum was immediately frozen and stored at -80°C until the end of study when all samples were analysed for PSP and sCD25.

Pancreatic stone protein levels were measured on microplate assays, using a sandwich isoform-specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), as previously described [21]. sCD25 levels were measured on microplate assays, using also an ELISA sandwich assay, according to manufacturer's recommendations. Serum PCT levels were measured in a Cobas 411 analyser (Roche Diagnostic, Mannheim, Germany), according to the electrochemiluminescence immunoassay measurement principle, with a detection limit of 0.02 ng/mL, functional sensitivity of 0.06 ng/mL, measurement range of 0.02–100 ng/mL, intra-assay imprecision of 0.9–1.3% and total precision of 4.0–3.7%, according to manufacturer's instructions.

Statistical analyses

The normality of continuous variables was tested by Kolmogorov–Smirnov or Shapiro–Wilk tests, as appropriate. Continuous variables are presented as median (interquartile range [IQR]) for non-normally distributed data or mean (standard deviation [SD]) for normally distributed data. Comparisons of group differences for continuous variables were made by the Mann–Whitney *U*-test or the Student's *t*-test, as appropriate. Categorical variables are presented as number and percentage in each category. The significance of differences in percentages was tested by the Chi-squared test. Sensitivity, specificity and likelihood ratios of PCT, sCD25 and PSP for the diagnosis of infection and sepsis were calculated using final diagnosis categorization. A receiver operating characteristic (ROC) analysis was performed for each of the biomarkers, and their diagnostic accuracy for infection and sepsis was compared with the DeLong test. The optimal threshold value was set for each ROC curve through the Youden Index (corresponding to the maximum of the sum 'sensitivity + specificity').

The statistical analyses were performed using *SPSS v. 20.0* (software SPSS Inc., Chicago, IL, USA). All *P*-values < 0.05 were considered statistically significant.

Reporting of the study conforms to CONSORT-revised and the broader EQUATOR guidelines [27].

Results

Baseline characteristics of the study population

The study population consisted of a total of 152 adult patients (median age: 66 years [IQR: 33], range: 16–97 years; 88 (57.9%) male) presenting to ED and who fulfilled inclusion criteria. Thirty-six patients had received antibiotic therapy previously (23.7%). A total of 129 patients were classified as infection (84.9%). The most common sources of infection were urinary ($n = 53$ (41.1%) and respiratory tracts ($n = 41$ (31.8%). Infection was microbiologically proven in 69 patients (53.5%); in 49 patients (71%), infection was caused by gram-negative bacteria, and in 12 patients (17.4%), by gram-positive bacteria; in five patients (7.2%), gram-positive and gram-negative bacteria were isolated, and in three patients (4.2%), infection was caused by other type of microorganism. Bacteraemia was detected in 30 patients (23.3%), with *Escherichia coli* being the microorganism most frequently isolated (63.3%). Among patients with confirmed infection, the final diagnosis was noncomplicated infection and sepsis in 82 (63.6%) and 47 (36.4%), respectively. A comparison of demographic and baseline data, including the sources of infection, is summarized in Table 1.

Discrimination between noninfection and infection

There were no significant differences between the two groups regarding age, gender, antibiotic therapy prior to ED visit and infection focus. Serum levels of the different biomarkers measured in our study are shown in Fig. 1. Levels of PCT, PSP and sCD25 were significantly higher in patients with infection than in noninfected patients (Table 1).

For discrimination between infection and noninfection, ROC curve analysis revealed AUCs values of 0.904, 0.869 and 0.839 for PCT, sCD25 and PSP, respectively, without statistically significant differences between them (Table 2). ROC curves are shown in Fig. 2, and optimal thresholds and the performance of each biomarker are shown in Table 2.

Discrimination between noncomplicated infection and sepsis

When 'noncomplicated infection' and 'sepsis' groups were compared, patients with sepsis were older and the requirement for management in ICU was higher. Regarding biomarkers, serum levels of the three biomarkers were significantly higher in patients classified into sepsis group (Table 1).

For discriminating between noncomplicated infection and sepsis, ROC AUCs were 0.820, 0.872 and 0.835 for PCT, PSP and sCD25, respectively, without statistically significant differences between them (Table 3). ROC curves are shown in Fig. 2, and optimal thresholds and the performance of each biomarker are shown in Table 3.

Table 1 Characteristics of the study population

	Noninfection <i>n</i> = 23 (15.1%)	Infection <i>n</i> = 129 (84.9%)	<i>P</i>	Noncomplicated infection <i>n</i> = 82 (63.6%)	Sepsis* <i>n</i> = 47 (36.4%)	<i>P</i>
Age, years (Median [IQR])	66 (36)	67 (32)	0.386	64 (31)	73 (27)	0.028
Gender, male/female	12/11	76/53	0.830	49/33	20/27	0.798
Previous antibiotic therapy, <i>n</i> (%)	4 (17.4)	32 (24.8)	0.441	22 (26.8)	10 (21.3)	0.482
Infection focus, <i>n</i> (%)						
Urinary		53 (41.1)		35 (42.7)	18 (38.3)	
Respiratory		41 (31.8)		29 (35.4)	12 (25.5)	
Abdominal		19 (14.7)		9 (11)	10 (21.3)	
Skin and soft tissues		8 (6.2)		6 (7.3)	2 (4.3)	
Central nervous system		1 (0.8)		0 (0)	1 (2.1)	
Isolated bacteraemia		1 (0.8)		1 (1.2)	0 (0)	
Other/Unknown		6 (4.7)		2 (2.4)	4 (8.5)	
Biomarkers levels (Median [IQR])						
PCT (ng/mL)	0.07 (0.10)	0.54 (2.23)	< 0.001	0.33 (0.72)	3.78 (13.4)	< 0.001
PSP (ng/mL)	23 (14)	73 (173)	< 0.001	44 (62)	252 (254)	< 0.001
sCD25 (ng/mL)	3.8 (0.9)	7.5 (7.6)	< 0.001	5.8 (4.0)	12.0 (10.5)	< 0.001

IQR, Interquartile range; CRP, C-reactive protein; PCT, Procalcitonin; PSP, Pancreatic stone protein; sCD25, soluble CD25.

*Including sepsis (*n* = 37 [78.7%]) and septic shock (*n* = 10 [21.3%]).

Biomarker levels were analysed for bacteraemia. PSP, sCD25 and PCT were significantly higher in patients in which bacteraemia was detected (PSP: 133 ng/mL (219) vs. 59 ng/mL (127); *P* = 0.044, sCD25: 12.1 ng/mL (11.1) vs. 6.9 ng/mL (5.1); *P* = 0.003, PCT: 2.14 ng/mL (14.52) vs. 0.43 ng/mL (1.13); *P* < 0.001). When biomarker levels were compared between patients with microbiologically proven infection and those with clinical or radiologically documented infection, no significant differences were observed.

Discussion

An accurate and timely diagnosis of infection and sepsis is critical for the optimal management of patients, and helps limiting mortality and improving patient outcomes [4]. A new definition for sepsis (Sepsis-3) has been recently published [2]. However, this definition has some limitations; among them, there was no attempt to redefine infection. Rather, it next sought to generate recommendations for clinical and other criteria, such as infection and/or inflammatory biomarkers, that could be used to identify infection and sepsis among patients with suspected infection, mainly in patients with multiple comorbidities as elderly, in which the incidence and short-time mortality of the infectious diseases have increased

significantly in recent years [1] and the clinical manifestations are often nonspecific and variable [28].

Procalcitonin is widely reported as a useful biomarker to identify bacterial infection [29,30], including in elderly [31] and immunocompromised patients [32], to differentiate sepsis from other noninfectious causes of SIRS [16] and to assess the sepsis severity [33]. Its measurement is included in some guidelines and may be considered in patients with acute heart failure with suspected coexisting infection, particularly for the differential diagnosis of pneumonia [34], and for the management of adult lower respiratory tract infections [35]. Some authors have recently recommended the inclusion of PCT in guidance protocols for early stopping of antibiotics in critically ill patients [36,37]. However, although PCT is currently the biomarker most commonly used in the clinical practice, it has some limitations [15]. A previous study has reported the diagnostic value of PSP and sCD25 for sepsis in ICU setting [24], but to our knowledge, no study has evaluated the diagnostic utility of both biomarkers in ED setting.

In this study, performed in patients at the time of admission to ED, we have investigated the diagnostic accuracy of PSP and sCD25 for infection and sepsis, as compared with PCT, and the main finding is that PSP and sCD25 perform at least

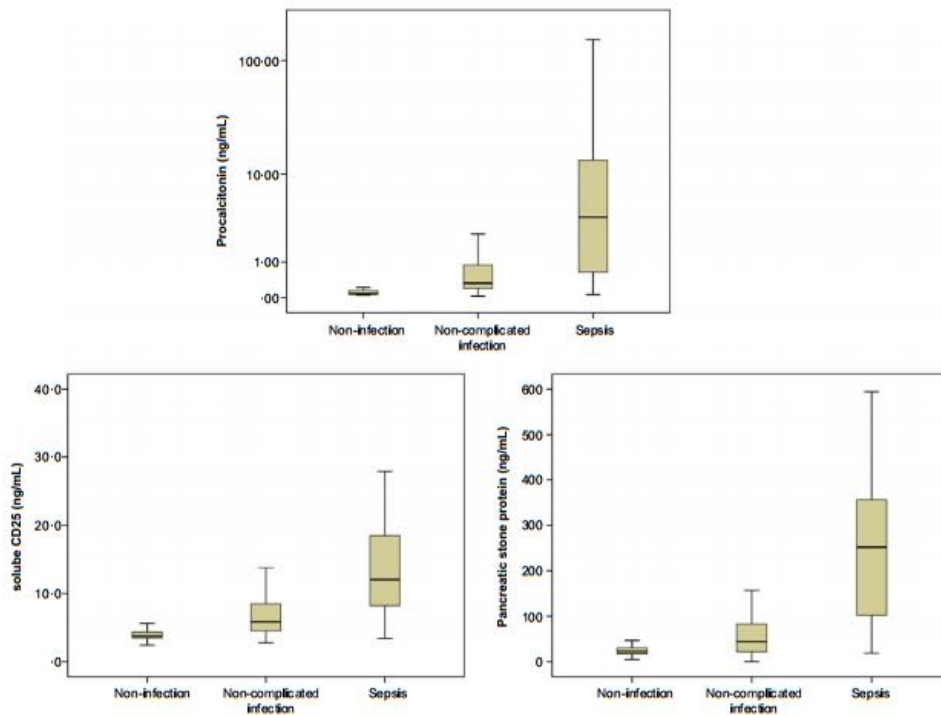


Figure 1 Median (boxplots) values of procalcitonin, pancreatic stone protein and soluble CD25 in different conditions.

Table 2 Diagnostic accuracy of pancreatic stone protein (PSP), soluble CD25 (sCD25) and procalcitonin (PCT) for infection

Biomarker	PSP (ng/mL)	sCD25 (ng/mL)	PCT (ng/mL)
AUC (95% CI)	0.839 (0.773–0.904) $P < 0.001$	0.869 (0.796–0.942) $P < 0.001$	0.904 (0.852–0.955) $P < 0.001$
Optimal cut-off*	41.5	4.4	0.2
Sensitivity (%) (CI 95%)	67.4 (58.6–75.4)	85.3 (78.0–90.9)	79.8 (71.9–86.4)
Specificity (%) (CI 95%)	95.7 (78.1–99.9)	78.3 (56.3–92.5)	91.3 (72.0–98.9)
LR + (95% CI)	15.5 (2.3–105.9)	3.9 (1.8–8.5)	9.2 (2.4–34.6)
LR – (95% CI)	0.34 (0.3–0.4)	0.19 (0.1–0.3)	0.22 (0.2–0.3)

AUC, area under the curve; CI, confidence interval; LR (+), likelihood ratio positive; LR (–), likelihood ratio negative.

Comparisons between biomarkers: PSP vs. sCD25 $P = 0.456$; PSP vs. PCT $P = 0.094$; sCD25 vs. PCT $P = 0.465$.

*According Youden index.

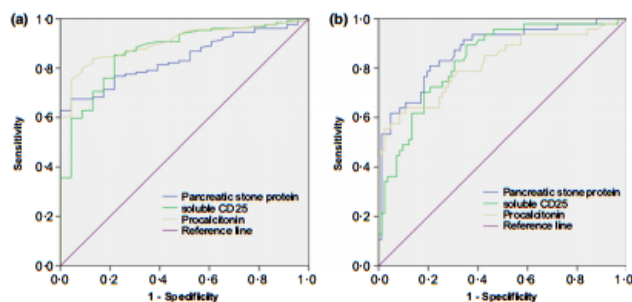


Figure 2 Receiver operating characteristic for procalcitonin, pancreatic stone protein and soluble CD25 for diagnosis of infection (a) and for diagnosis of sepsis (b).

Table 3 Diagnostic accuracy of pancreatic stone protein (PSP), soluble CD25 (sCD25) and procalcitonin (PCT) for sepsis

Biomarker	PSP (ng/mL)	sCD25 (ng/mL)	PCT (ng/mL)
AUC (95% CI)	0.872 (0.807–0.937) $P < 0.001$	0.835 (0.764–0.906) $P < 0.001$	0.820 (0.739–0.901) $P < 0.001$
Optimal cut-off*	96.6	6.87	2.02
Sensitivity (%) (CI 95%)	80.9 (66.7–90.9)	89.4 (76.9–96.5)	61.7 (46.4–75.5)
Specificity (%) (CI 95%)	79.3 (68.9–87.4)	64.6 (53.3–74.9)	91.5 (83.2–96.5)
LR + (95% CI)	3.90 (2.5–6.1)	2.53 (1.9–3.4)	7.23 (3.4–15.2)
LR – (95% CI)	0.24 (0.1–0.4)	0.16 (0.07–0.4)	0.42 (0.3–0.6)

AUC, area under the curve; CI, confidence interval; LR (+), likelihood ratio positive; LR (–), likelihood ratio negative.

Comparisons between biomarkers: PSP vs. sCD25 $P = 0.297$; PSP vs. PCT $P = 0.218$; sCD25 vs. PCT $P = 0.749$.

*According Youden index.

comparably with PCT to detect infection and to identify sepsis among infected patients.

In our study, PCT, PSP and sCD25 performed well as markers for infection and for sepsis, with ROC AUCs above 0.8. Llewellyn *et al.* [24] reported higher serum PSP, PCT and sCD25 levels in patients with sepsis, defined as SIRS in presence of infection (Sepsis-2 definition), than in patients with noninfective SIRS, with ROC AUCs in distinguishing both conditions of 0.93, 0.84 and 0.90, respectively, slightly higher than ROC AUCs found in our study in differentiating infected from noninfected patients; this difference could be due to the different criteria used to classify the patients and a generally higher severity of disease expected in a ICU setting.

In the ED setting, several recent studies using the previous sepsis definition support the use of PCT for diagnosis of sepsis. Indeed, for Hur *et al.* [38] PCT-based sepsis diagnosis was more reliable and discriminating than clinical sepsis diagnosis. Magrini *et al.* [39] reported a ROC AUC value of 0.79 for sepsis in patients with symptoms of infection, improving this diagnostic accuracy when PCT was combined with other biomarkers such as CRP and WBC. However, comparison of our results

with those obtained in these studies is not possible due to differences in the criteria for classification of patients. Also in ED patients, Liu *et al.* [40] reported a ROC AUC value for PCT of 0.741 (95% CI: 0.703–0.779) for severe sepsis, term similar to sepsis in the new Sepsis-3 definition, which is lower than in our study (ROC AUC: 0.820). Recently, PCT was reported as an accurate diagnostic marker, with a ROC AUC value of 0.84, for pneumonia in patients presenting to ED with dyspnoea [41]. In other setting, Klouche *et al.* [42] have reported a ROC AUC value of 0.80 for PCT to differentiate infected from noninfected patients in ICU patients, which is also lower than in our study (ROC AUC: 0.904). A similar performance (ROC AUC: 0.780) has been reported by Koch *et al.* [43] to discriminate between sepsis and nonsepsis in critically ill patients. This performance was lower in Godnic *et al.* [44] study, in which PCT showed a ROC AUC value of 0.630 to detect bacterial infection between ICU patients with SIRS.

Our study has several important strengths. First, the updated definition for sepsis has been used to classify the patients. Second, we have evaluated the biomarkers in unselected patients who were considered by their ED physicians to have

an infection. Patients with inflammatory response but without suspected infection were not included in the study, thereby allowing a challenging, real-life assessment of biomarkers, because our study population closely resembles the one ED physicians face in their daily practice.

Our study has also some limitations. First, it was a single-centre study, so the results may not be applicable to other settings, and with a small sample size. Second, we have assessed the diagnostic accuracy for infection and sepsis at the time of sampling and we cannot draw conclusions about the value of biomarkers as predictors for later development of sepsis or the impact of serial measurements. Further investigation is necessary to determine whether these biomarkers could predict the development of sepsis or the progression of severity. Third, we did not exclude from the analysis patients with chronic renal failure or gastrointestinal diseases, conditions in which increases in PSP have been reported [19,20]. Fourth, the small number of patients classified as septic shock ($n = 10$) does not allow us to evaluate reliably the utility of biomarkers to reflect the severity of sepsis. Finally, in our study, to classify the patients, mandatory organ dysfunction was the definition used for sepsis; this makes difficult the comparison with previous studies using the former definition of sepsis.

In conclusion, our results suggest that two novel biomarkers, PSP and sCD25, performed well to detect infection and to identify patients with sepsis in the ED setting when applying the recently revised sepsis definitions [2]. Our findings support the assessment of both biomarkers by further larger studies to aid in the clinical decision process in ED patients with suspected infection.

Conflict of interest

Abbott Diagnostics supported the study providing PSP and sCD25 reagents. MB (now at Philips Handheld Diagnostics, Eindhoven, The Netherlands) was employee of Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden, Germany, when study was performed. All other authors declare that there is no conflict of interest. Abbott GmbH and Co. KG did not participate in the protocol development or interpretation of the results.

Authors' contributions

LGG and MDA designed the study. EJS, AHH and PET recruited the subjects for the study. SRA, RJS and AOF compiled the clinical data and categorized the subjects. EJS was responsible for measuring PSP and sCD25. LGG and MB analysed the data and wrote the manuscript.

Address

Clinical Chemistry Laboratory and Intensive Care Unit, Santa Lucía Hospital, Calle Mezquita s/n, Paraje Los Arcos 30202.

Cartagena (Murcia), Spain (L. García de Guadiana-Romualdo, E. Jiménez-Santos, P. Esteban-Torrella, A. Hernando-Holgado, M. D. Albaladejo-Otón, S. Rebollo-Acebes, R. Jiménez-Sánchez, A. Ortín-Freire); Philips Handheld Diagnostics, High Tech Campus 29, 5656AE, Eindhoven, The Netherlands (M. Berger).

Correspondence to: Luis García de Guadiana-Romualdo, Clinical Chemistry Laboratory, Santa Lucía Hospital, Calle Mezquita s/n, Paraje Los Arcos 30202, Cartagena (Murcia), Spain. Tel.: +34 96818600; fax: +34 968128631; e-mail: guadianarom@yahoo.es

Received 12 November 2016; accepted 29 January 2017

References

- Martínez Ortiz de Zárate M, González del Castillo J, Julián Jiménez A, Piñera Salmerón P, Llopis Roca F, Guardiola Tey JM *et al.* Epidemiology of infections treated in hospital emergency departments and changes since 12 years earlier: the INFURG study of the Spanish Society of Emergency Medicine (SEMES). *Emergencias* 2013;25:368–78.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016;315:801.
- Bouza C, López-Cuadrado T, Saz-Parkinson Z, Amate-Blanco JM. Epidemiology and recent trends of severe sepsis in Spain: a nationwide population-based analysis (2006–2011). *BMC Infect Dis* 2014;14:3863.
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM *et al.* Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med* 2013;39:165–228.
- González-Castillo J, Candel FJ, Julián-Jiménez A. [Antibiotics and timing in infectious disease in the emergency department]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013;31:173–80.
- Ferrer R, Martin-Loeches I, Phillips G, Osborn TM, Townsend S, Dellinger RP *et al.* Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program. *Crit Care Med* 2014;42:1749–55.
- Vincent J-L. The clinical challenge of sepsis identification and monitoring. *PLoS Med* 2016;13:e1002022.
- Martín-Sánchez FJ, Julián-Jiménez A, Candel González FJ, LlopisRoca F, Martínez Ortiz de Zárate M, González Del Castillo J *et al.* [Profile and initial management of infection in elderly patients in an Emergency Department]. *Rev Esp Geriatr Gerontol* 2017;52:9–14.
- Bille J. Laboratory diagnosis of infections in febrile neutropenic or immunocompromised patients. *Int J Antimicrob Agents* 2000;16:87–9.
- Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care* 2010;14:R15.
- Riedel S. Procalcitonin and the role of biomarkers in the diagnosis and management of sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;73:221–7.
- Tang BM, Eslick GD, Craig JC, McLean AS. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:210–7.
- Faix JD. Biomarkers of sepsis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2013;50:23–36.

- 14 Clec'h C, Fosse J-P, Karoubi P, Vincent F, Chouah I, Hamza L *et al.* Differential diagnostic value of procalcitonin in surgical and medical patients with septic shock. *Crit Care Med* 2006;34:102-7.
- 15 Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin in bacterial infections—hope, more or less? *Swiss Med Wkly* 2005;135:451-60.
- 16 Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2013;13:426-35.
- 17 Watanabe T, Yonekura H, Terazono K, Yamamoto H, Okamoto H. Complete nucleotide sequence of human reg gene and its expression in normal and tumoral tissues. The reg protein, pancreatic stone protein, and pancreatic thread protein are one and the same product of the gene. *J Biol Chem* 1990;265:7432-9.
- 18 Graf R, Schiesser M, Reding T, Appenzeller P, Sun L-K, Fortunato F *et al.* Exocrine meets endocrine: pancreatic stone protein and regenerating protein—two sides of the same coin. *J Surg Res* 2006;133:113-20.
- 19 Iovanna JL, Keim V, Nordback I, Montalto G, Camarena J, Letoublon C *et al.* Serum levels of pancreatitis-associated protein as indicators of the course of acute pancreatitis. Multicentric Study Group on Acute Pancreatitis. *Gastroenterology* 1994;106:728-34.
- 20 Motoo Y, Satomura Y, Mouri I, Mouri H, Ohtsubo K, Sakai J *et al.* Serum levels of pancreatitis-associated protein in digestive diseases with special reference to gastrointestinal cancers. *Dig Dis Sci* 1999;44:1142-7.
- 21 Keel M, Härtel L, Reding T, Sun L-K, Hensberger M, Seifert B *et al.* Pancreatic stone protein is highly increased during posttraumatic sepsis and activates neutrophil granulocytes. *Crit Care Med* 2009;37:1642-8.
- 22 Venet F, Chung C-S, Monneret G, Huang X, Homer B, Garber M *et al.* Regulatory T cell populations in sepsis and trauma. *J Leukoc Biol* 2007;83:523-35.
- 23 Saito K, Wagatsuma T, Toyama H, Ejima Y, Hoshi K, Shibusawa M *et al.* Sepsis is characterized by the increases in percentages of circulating CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and plasma levels of soluble CD25. *Tohoku J Exp Med* 2008;216:61-8.
- 24 Llewellyn MJ, Berger M, Gregory M, Ramaiah R, Taylor AL, Curdt I *et al.* Sepsis biomarkers in unselected patients on admission to intensive or high-dependency care. *Crit Care* 2013;17:R60.
- 25 Que Y-A, Delodder F, Guessous I, Graf R, Bain M, Calandra T *et al.* Pancreatic stone protein as an early biomarker predicting mortality in a prospective cohort of patients with sepsis requiring ICU management. *Crit Care* 2012;16:R114.
- 26 Que Y-A, Guessous I, Dupuis-Lozeron E, de Oliveira CRA, Oliveira CF, Graf R *et al.* Prognostication of Mortality in Critically Ill Patients With Severe Infections. *Chest* 2015;148:674-82.
- 27 Simera I, Moher D, Hoey J, Schulz KF, Altman DG. A catalogue of reporting guidelines for health research. *Eur J Clin Invest* 2010;40:35-53.
- 28 Martin GS, Mannino DM, Moss M. The effect of age on the development and outcome of adult sepsis. *Crit Care Med* 2006;34:15-21.
- 29 Kofoed K, Andersen O, Kronborg G, Tvede M, Petersen J, Eugen-Olsen J *et al.* Use of plasma C-reactive protein, procalcitonin, neutrophils, macrophage migration inhibitory factor, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in combination to diagnose infections. *Crit Care* 2007;11:R38.
- 30 Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004;39:206-17.
- 31 Gómez-Cerquera JM, Daroca-Pérez R, Baeza-Trinidad R, Casañas-Martínez M, Mosquera-Lozano JD, Ramalle-Gómara E. Validity of procalcitonin for the diagnosis of bacterial infection in elderly patients. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015;33:521-4.
- 32 Yu X, Ma X, Ai Y. [Diagnostic value of serum procalcitonin for infection in the immunocompromised critically ill patients with suspected infection]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2015;27:477-83.
- 33 Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet D, Ricou B, Grau GE *et al.* Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:396-402.
- 34 Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS *et al.* 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Rev Española Cardiol (English Ed)* 2016;69:1167.
- 35 Woodhead M, Blasi F, Ewig S, Garau J, Huchon G, Ieven M *et al.* Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections – Full version. *Clin Microbiol Infect* 2011;17: E1-59.
- 36 de Jong E, van Oers JA, Beishuizen A, Vos P, Vermeijden WJ, Haas LE *et al.* Efficacy and safety of procalcitonin guidance in reducing the duration of antibiotic treatment in critically ill patients: a randomised, controlled, open-label trial. *Lancet Infect Dis* 2016;16:819-27.
- 37 Schuetz P, Müeller B. Procalcitonin in critically ill patients: time to change guidelines and antibiotic use in practice. *Lancet Infect Dis* 2016;16:758-60.
- 38 Hur M, Kim H, Lee S, Cristofano F, Magrini L, Marino R *et al.* Diagnostic and prognostic utilities of multimarkers approach using procalcitonin, B-type natriuretic peptide, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in critically ill patients with suspected sepsis. *BMC Infect Dis* 2014;14:224.
- 39 Magrini L, Gagliano G, Travaglio F, Vetrone F, Marino R, Cardelli P *et al.* Comparison between white blood cell count, procalcitonin, and C reactive protein as diagnostic and prognostic biomarkers of infection or sepsis in patients presenting to emergency department. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1465-72.
- 40 Liu B, Chen Y-X, Yin Q, Zhao Y-Z, Li C-S. Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Crit Care* 2013;17:R244.
- 41 Alba GA, Truong QA, Gaggin HK, Gandhi PU, De Bernardis B, Magrini L *et al.* Diagnostic and prognostic utility of procalcitonin in patients presenting to the emergency department with dyspnea. *Am J Med* 2016;129:96-104. e7.
- 42 Klouche K, Cristol JP, Devin J, Gilles V, Kuster N, Larcher R *et al.* Diagnostic and prognostic value of soluble CD14 subtype (Presepsin) for sepsis and community-acquired pneumonia in ICU patients. *Ann Intensive Care* 2016;6:59.
- 43 Koch A, Voigt S, Kruschinski C, Sanson E, Dückers H, Hom A *et al.* Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor is stably elevated during the first week of treatment in the intensive care unit and predicts mortality in critically ill patients. *Crit Care* 2011;15:R63.
- 44 Godnik M, Stubjar D, Skvarc M, Jukic T, Jukic T. Diagnostic and prognostic value of sCD14-ST—presepsin for patients admitted to hospital intensive care unit (ICU). *Wien Klin Wochenschr* 2015;127:521-7.



Sepsis biomarkers: A review

Title in Spanish: *Biomarcadores empleados en sepsis: Un review*

Ana Hernando Holgado¹, Luis García de Guadiana¹, Ana Fernández-Carballido^{1,*}, M. Dolores Albaladejo Otón¹

¹Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. UCM.

ABSTRACT: Infectious diseases, such as sepsis, are a serious health problem in the world, associated with high morbidity and mortality in all areas of health care. These are time dependent diseases in which the early application of diagnostic therapeutic actions, significantly improve patient survival and prognosis. To carry out this, we have tools such as biomarkers that help us in the diagnosis and prognosis of these pathologies. There are biomarkers widely used such as PCR, Procalcitonin or cytokines, and others that are less known as pro-adrenomedullin (pro-ADM), soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1), soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (SuPAR), Pancreatic Stone Protein (PSP) or sCD25.

RESUMEN: Las enfermedades infecciosas, como la sepsis, constituyen un grave problema de salud en el mundo, asociándose con una elevada morbilidad y mortalidad en todos los ámbitos de la asistencia sanitaria. Se trata de enfermedades tiempo dependientes en las que la aplicación precoz de una serie de medidas diagnóstico terapéuticas mejoran de forma significativa la supervivencia y el pronóstico del paciente. Para ello se disponen de herramientas como los biomarcadores que nos ayudan tanto en el diagnóstico como pronóstico de estas patologías; biomarcadores clásicos y ampliamente utilizados como la PCR, procalcitonina o citocinas y otros menos conocidos como presepsina, pro-adrenomedulina (pro-ADM), soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (sTREM-1), soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR), Pancreatic Stone Protein (PSP) o sCD25.

*Corresponding Author: ahernand@ucm.es

Received: April 6, 2017 Accepted: May 7, 2017

An Real Acad Farm Vol. 83, Nº 2 (2017), pp. -

Language of Manuscript: Spanish

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas constituyen un grave problema de salud en el mundo, asociándose con una elevada morbilidad y mortalidad en todos los ámbitos de la asistencia sanitaria (1). De entre ellas, la sepsis forma parte del grupo de enfermedades tiempo dependiente, entendiéndose como tales aquellas en las que el retraso diagnóstico terapéutico influyen negativamente en la evolución del proceso y por tanto la aplicación precoz de una serie de medidas diagnóstico terapéuticas, entre las que se incluyen la terapia antibiótica y el soporte hemodinámico adecuado, mejoran de forma significativa la supervivencia y el pronóstico del paciente.

Para el diagnóstico de estas patologías nos podemos ayudar de pruebas microbiológicas, pero, las propias características de estas pruebas suponen una limitación para un diagnóstico rápido, porque la obtención de resultados no es inmediata y además, estas pruebas pueden estar condicionadas por la toma previa de antibióticos (2).

Por ello, la disponibilidad de otras herramientas, como los marcadores bioquímicos, probablemente en combinación con criterios clínicos, es esencial en la toma de decisiones ante este tipo de pacientes, al tratarse la

sepsis de una patología tiempo-dependiente y en la que la rápida identificación del proceso, la administración de la terapia antibiótica adecuada, así como la categorización de la severidad como base para la toma de decisiones diagnóstico-terapéuticas, son necesarias en el manejo de esta patología, de manera que los retrasos en la administración de los antibióticos o de otras medidas terapéuticas puede modificar sustancialmente el pronóstico de los pacientes (3).

Un marcador bioquímico es un producto sanitario para el diagnóstico *in vitro*, definiéndose producto sanitario como todo aquel material que consista en un reactivo, producto reactivo, calibrador, material de control, estuche de instrumental y materiales, instrumento, aparato, equipo o sistema, utilizado solo o en asociación con otros, destinado por el fabricante a ser utilizado *in vitro* para el estudio de muestras procedentes del cuerpo humano, incluidas las donaciones de sangre y tejidos, sólo o principalmente con el fin de proporcionar información: relativa a un estado fisiológico o patológico, o relativa a una anomalía congénita, o para determinar la seguridad y compatibilidad con receptores potenciales, o para supervisar medidas terapéuticas (4).

Por otro lado, se define como biomarcador a aquella molécula medible en una muestra biológica de forma objetiva, sistemática y precisa, cuyos niveles se constituyen en indicadores de que un proceso es normal o patológico y sirven para monitorizar la respuesta al tratamiento (5) (6) (7). El biomarcador debe proporcionar información adicional a la que se obtiene con los datos clínicos del paciente y ayudar a la hora de tomar decisiones urgentes en los SUH (8).

Al biomarcador ideal, que no existe, se le debería reconocer y exigir capacidad para:

- Establecer un diagnóstico precoz (incluso antes de que se manifiesten los signos y síntomas de una infección bacteriana grave como hipotensión, hiperlactacidemia o disfunción de órganos). Por lo tanto, aumentará la seguridad y acortará el tiempo del diagnóstico clínico de la infección/sepsis, permitiendo el inicio más precoz de las medidas terapéuticas adecuadas (5) (9) (10).
- Cuantificar la gravedad y estratificar el riesgo, identificar a los pacientes con infección/sepsis con la máxima sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo (VPP), y descartar los casos con riesgo de mala evolución (como en el caso de bacteriemia) con la mayor especificidad y valor predictivo negativo (VPN) (6) (8).
- Monitorizar la evolución de la infección bacteriana y su respuesta al tratamiento, de forma que sirva de guía para la terapia antibiótica (indicación, cese o cambio del antibiótico) (8) (11).

Existen numerosos biomarcadores empleados con esta finalidad; los más empleados en la práctica clínica, quizás porque tienen la ventaja de estar automatizados son la PCR (proteína C reactiva), PCT (procalcitonina) y citocinas.

2. BIOMARCADORES

Se han publicado diversos estudios relacionados con la sepsis y los diferentes biomarcadores empleados para su diagnóstico (12) (13) (14), más que en ninguna otra patología; Quizás esto se deba a la complejidad de la fisiopatología de la sepsis, en la que intervienen numerosos mediadores inflamatorios, además de otros mecanismos fisiopatológicos (15).

Una de las revisiones más recientes y completas es la de Pierrakos y cols, que analizaron todos los estudios realizados hasta el año 2010, incluyendo 3370 artículos con un total de 178 biomarcadores, número que probablemente se haya incrementado en los últimos seis años (16):

Los biomarcadores PCR y PCT están ampliamente implantados en la práctica clínica, incluso su medición fue recogida en la definición de sepsis del 2001. Otros marcadores han sido y siguen siendo evaluados para su utilización en el manejo de los pacientes con sospecha de infección; de entre ellos, los más descritos son: *presepsina*, *pro-adrenomedulina* (pro-ADM), *soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1* (sTREM-1), *soluble urokinase-type plasminogen activator receptor* (suPAR) (17), *Pancreatic Stone Protein* (PSP) o sCD25.

2.1. Biomarcadores clásicos

2.1.1. Citocinas

Las citocinas, también llamadas citoquinas, son proteínas responsables de la comunicación intercelular, activando receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, etc. Son producidas por diferentes tipos celulares, mayoritariamente los linfocitos y macrófagos activados (18).

Su acción principal consiste en la regulación del mecanismo de la inflamación, ya que hay citocinas pro-inflamatorias y otras de carácter anti-inflamatorio.

Se trata de proteínas de bajo peso molecular, que fueron descubiertas en la década de los 60-70 (19).

Hay más de 100 tipos, cada una de ellas con una acción específica, aunque citocinas diferentes comparten funciones similares. Es difícil clasificarlas, pero se podrían agrupar en 4 grupos funcionales, de acuerdo al sitio o fase específica de la respuesta inmune en la que actúen (20):

- Citocinas pro-inflamatorias: Actúan en la respuesta inmune innata, inespecífica o inflamación. Son interleucina-1 (IL-1), Factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleucina-8 (IL-8), interleucina-12 (IL-12), interleucina-16 (IL-16) e interferones.
- Citocinas que favorecen el desarrollo de inmunidad celular y/o citotóxica: Interferón gamma (IFN- γ), interleucina-2 (IL-2).
- Citocinas que favorecen la producción de las diversas clases de inmunoglobulinas o inmunidad humoral: interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), interleucina-13 (IL-13), Factor Inhibitorio de Leucemias (LIF), Oncostatin M (OSM)...
- Citocinas con funciones extra-inmunológicas y/u homeostáticas: interleucina-3 (IL-3), factor estimulante de monocitos y granulocitos (GM-CSF), eritropoyetina (EPO)...

Durante la inflamación e infección, los niveles de estas citocinas aumentan en suero, por lo que diferentes estudios han publicado su posible utilidad como biomarcadores para la identificación de la infección/sepsis. Así, por ejemplo, la IL-8 puede identificar infecciones severas en pacientes neutropénicos (21), o la IL-6 elevada sugiere una aparición rápida de un shock séptico (22)(23).

Las limitaciones principales de las citocinas son su inespecificidad, ya que su secreción es dependiente del proceso inflamatorio, y su cinética, dado que la precocidad en alcanzar su concentración máxima limita su uso en la práctica clínica. Tanto el TNF como las IL-1, IL-6, IL-8 e IL-10 tienen una rápida respuesta y alcanzan su máximo nivel a las 2-3 h. Además, estas moléculas tienen poca bioestabilidad y semivida corta, por lo que podrían escapar fácilmente a una sola determinación, limitando su utilidad en los SUH (8).

En la práctica clínica solo la IL-6 ha tenido cierta implantación en el diagnóstico de la sepsis neonatal tardía (24).

2.1.2. PCR

Es una proteína plasmática no glicosilada de síntesis hepática, que se produce en respuesta a un estímulo inflamatorio en el organismo. Pertenece a la familia de las pentraxinas y está formada por cinco subunidades idénticas unidas por enlaces no covalentes; cada subunidad está formada por 206 aminoácidos (25). El papel fisiológico de esta proteína podría estar mediado por su unión a la fosfolipina, que está presente en la superficie de las células muertas y en algunos tipos de bacterias, con la finalidad de activar en el organismo el sistema del

complemento, promoviendo una respuesta antiinflamatoria y apoptótica (26)(27).

Su mecanismo de acción exacto *in vivo* no se conoce completamente, pero juega un papel importante en los procesos de defensa no específicos.

Es un importante marcador de fase aguda, formando parte de la respuesta inmunitaria innata. Su concentración puede aumentar hasta 50.000 veces en las 24-48 horas siguientes a la producción del daño tisular, con un inicio de su aumento a las 6 horas (Figura 1).

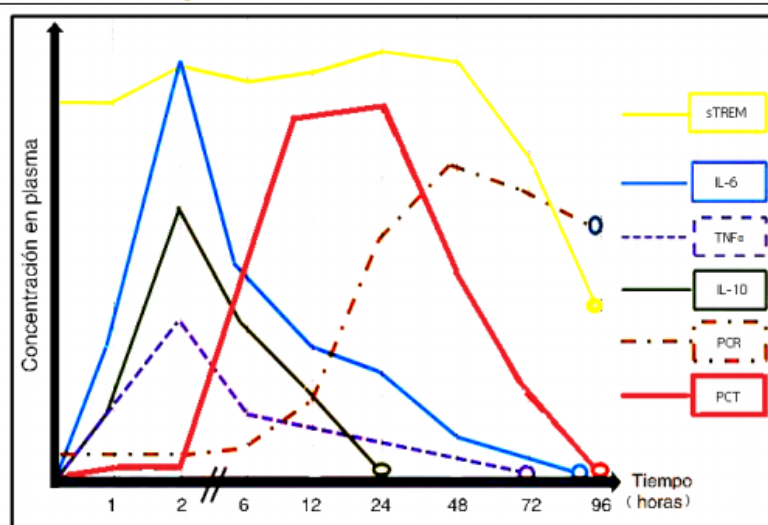


Figura 1. Cinética de los biomarcadores de sepsis. Imagen adaptada de Julián Jiménez y cols. (28)

A nivel clínico, la PCR se usa como marcador de inflamación y puede servir para determinar el progreso de una enfermedad o la efectividad de un tratamiento.

Son numerosas las limitaciones de la PCR como marcador de infección/sepsis:

1. Las concentraciones varían según la edad y el estado fisiológico (Tabla I).
2. Se trata de un marcador con especificidad limitada, ya que hay pacientes no infectados con valores de PCR muy elevados, como en el caso del paciente crítico (30).

3. Su cinética es más variable y lenta que la de la PCT (hasta 24 horas después) (31), pudiendo estar elevada incluso cuando la infección está remitiendo, lo que la hace que la PCT la esté relegando (8).

A pesar de sus limitaciones, y probablemente por motivos más relacionados con la tradición que con la medicina basada en la evidencia, sigue siendo un marcador ampliamente utilizado en nuestro país, como demuestra el estudio de Salinas y cols (32).

Tabla I: Concentraciones de PCR según edad y estado fisiológico (29)

Situación	Niveles séricos (mg/L.)
• Adultos sanos	<1
• Vejez	<2
• Embarazadas	
• Inflamación leve	1-4
• Infecciones virales	
• Inflamación activa	4-20
• Infección bacteriana	
• Infecciones bacterianas severas	>20
• Quemaduras	
• Sepsis	>50

2.1.3. PCT

La PCT es un péptido de 116 aminoácidos, precursor de la calcitonina, hormona que está relacionada con la regulación del metabolismo cálcico (Figura 2).

Procede del gen CALC-I que da lugar al *calcitonin gene related peptide* (CGRP) en las células del sistema nervioso central y a la pre-pro-calcitonina en las células C

del tejido tiroideo. Dicha pro hormona procede de la escisión de la pre-pro hormona en condiciones normales, en las células C de la glándula tiroides, que dará lugar a la hormona activa finalmente. Sin embargo, en las infecciones severas existe una síntesis en tejidos extratiroideos, generalmente en el sistema mononuclear fagocítico (33).

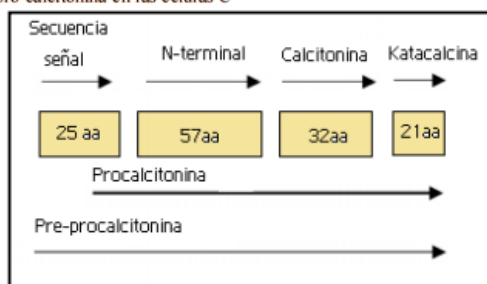


Figura 2: Estructura de la PCT.

Una de las principales ventajas de este marcador es su cinética, que permite una identificación más precoz del paciente infectado. Es rápida, con una respuesta inicial al estímulo de unas 2-6 h, con niveles máximos a las 8 h, que se mantienen estables hasta las 24 h y descienden hasta valores normales en 72-96 h (28), tal y como se observa en la Figura 1. La molécula es muy estable tanto *in vitro* como *in vivo*.

Algunos estudios describen la PCT como un marcador de alta especificidad para infección (34) y sepsis (35) (36). Se ha descrito que el incremento de su concentración en sangre apoya el diagnóstico diferencial de etiología bacteriana (37) y es indicativo de la severidad de la enfermedad (38).

El proceso de secreción de la PCT se muestra en la Figura 3.

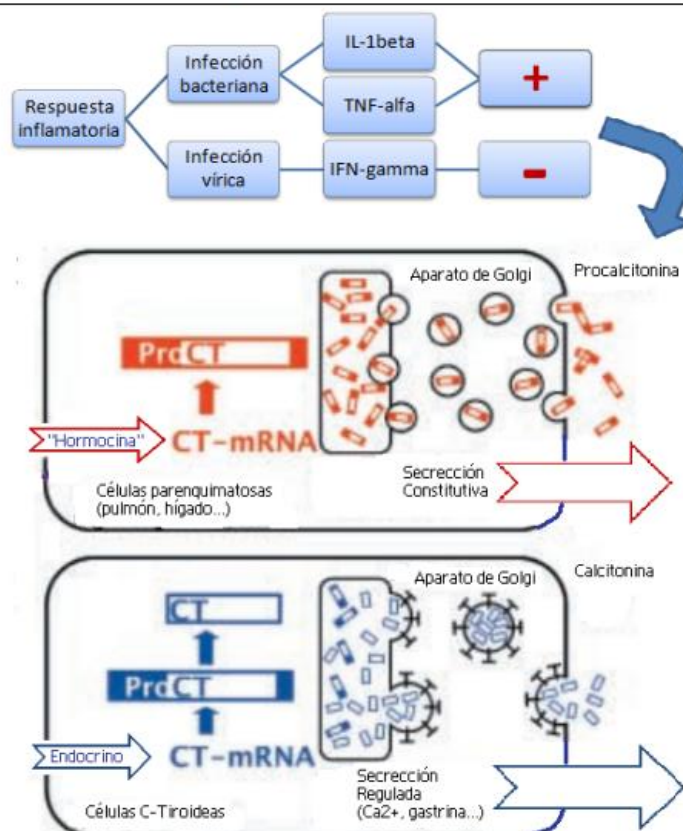


Figura 3. Proceso de liberación de la PCT. Imagen adaptada de Linscheid y cols. (39).

La función exacta de este biomarcador es todavía objeto de estudio en las fases de sepsis e infección, planteándose diferentes hipótesis, como si actúa en el metabolismo fosfocálcico, aunque se apuesta más por su posible intervención en la síntesis del óxido nítrico, que es el responsable de la hipotensión que aparece durante la

sepsis (40).

Sin embargo, la PCT también presenta limitaciones. En la tabla II se describen las principales causas de falsos positivos y falsos negativos descritos en la literatura (41)

Tabla II: Causas de falsos positivos y negativos de la PCT (41).

Falsos positivos	Falsos negativos
<ul style="list-style-type: none"> • Los recién nacidos (fisiológicamente) los primeros días de vida • Síndrome de distress respiratorio • Infecciones agudas por <i>Plasmodium falciparum</i>. • Infecciones micóticas sistémicas (candidiasis, aspergilosis...) • Traumatismos mecánicos graves • Traumatismos quirúrgicos • Administración de anticuerpos monoclonales o policlonales antitiroglobulina 	<ul style="list-style-type: none"> • Curso temprano de la infección • Infecciones localizadas • Endocarditis subaguda
<ul style="list-style-type: none"> • Rechazo de trasplantes • Neumonitis química • Quemaduras graves y golpes de calor • Pacientes con cáncer medular de tiroides, de pulmón de células pequeñas, o tumores con producción de hormonas paraneoplásicas • Fiebre mediterránea familiar (elevada producción de citoquinas) • Tratamiento del melanoma con TNFα 	

Existen cinco tipos de ensayos de medida, cuatro cuantitativos (inmunoluminométrico, inmunofluorescente, electroquimioluminiscencia e inmunoturbidimetría) y otro semicuantitativo (inmunocromatografía).

2.1.3.1. Biomarcadores emergentes

Aunque son muy numerosos los biomarcadores evaluados con fines diagnósticos y pronósticos en el contexto de la infección/sepsis, a continuación se describen aquellos de los que se dispone ya de métodos automatizados que facilitan su introducción en la práctica clínica.

2.1.3.1.1. Presepsina (sCD14-ST)

Se trata de una glicoproteína, presente en la membrana de los macrófagos, monocitos, neutrófilos, condrocitos, células B, células dendríticas, fibroblastos gingivales, queratinocitos humanos y líneas de células epiteliales

intestinales.

Sirve como receptor específico de alta afinidad para los LPS, presentes en la pared celular de las bacterias Gram negativas, y otros productos bacterianos, como los peptidoglucanos de las Gram positivas. Tal y como se muestra en la figura 4, el complejo LPS-LBP se une al receptor CD14 y activa al receptor TLR4, con la consecuente liberación de citocinas e interleucinas que provocan la cascada inflamatoria contra los agentes infecciosos. El complejo LPS-LBP-CD14 se libera a la circulación sanguínea, y por acción de ciertas enzimas se separa el CD14 del resto del complejo, generándose el sCD14, que es el fragmento soluble del CD14. Este fragmento, por acción de proteasas, se fracciona, dando lugar al sCD14-ST (sCD14 subtipo), que se conoce como presepsina (42).

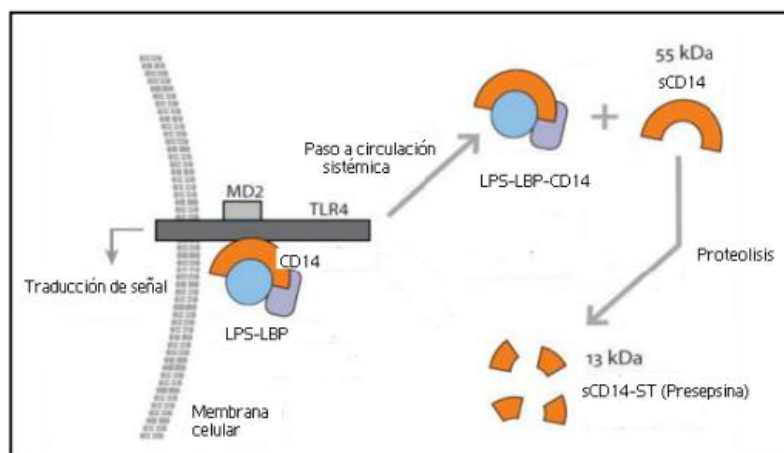


Figura 4. Activación de la presepsina. Imagen adaptada de Liu y cols (43).

La presepsina es el fragmento N-terminal de 13KDa de la glicoproteína CD14, y está formada por 64 aminoácidos (43).

Diversos estudios sugieren una correlación

significativa entre las puntuaciones de APACHE II, índice de severidad de la enfermedad y valores de presepsina, cuyos puntos de corte preliminares los sitúan según la siguiente tabla (Tabla III) en (44)(45):

Tabla III. Valores de corte de la presepsina.

Punto de corte	Severidad de la enfermedad
<200 pg/mL	Exclusión de sepsis e infección
<300 pg/mL	Exclusión de sepsis severa o shock séptico
>300 pg/mL	Posible sepsis
>1000 pg/mL	Alta probabilidad de sepsis severa o shock séptico.

Tiene una cinética de inicio al estímulo a las 2 h, con incrementos con cierta lentitud y el pico se presenta a las 24 h.

Este biomarcador inicialmente se medía por un método ELISA, pero esto requería un pretratamiento de la muestra que duraba entre 5-6 horas, lo que impedía dar un resultado rápido al clínico en los Servicios de Urgencias. Actualmente se ha optimizado la técnica y se mide mediante el analizador *Pathfast*, que es un sistema de inmunanálisis de quimioluminiscencia rápido (15 minutos), que utiliza sangre entera o plasma (EDTA o heparina) (46)(47) y permite su uso en la cabecera de paciente.

El papel de la presepsina como marcador diagnóstico de infección/sepsis en el contexto del paciente con sospecha de infección atendido en un SU es en la actualidad controvertido, con estudios que muestran resultados contradictorios respecto a sus posibles ventajas en comparación a la PCT.

2.1.3.1.2. MR-Proadrenomedulina (Pro-AMP)

La adrenomedulina (ADM) es un péptido de 52 aminoácidos, que forma un anillo de 6 residuos aminoácidos y una tirosina C-terminal (48). Tiene actividad inmunomoduladora, metabólica y vasodilatadora y fue aislada inicialmente en biopsias de feocromocitomas humanos.

Forma parte de la superfamilia de los péptidos de la calcitonina, ya que comparte un gen común, por lo que su estructura es similar. El gen de la ADM se localiza en el brazo corto del cromosoma 11. El precursor de la ADM es la pre-pro-ADM, con 185 aminoácidos, y mediante su escisión se genera un péptido de 164 aminoácidos que es la pro-ADM. A su vez, éste péptido genera dos péptidos activos, la ADM y el péptido N-terminal de la proadrenomedulina (PAMP) y una región medial sin actividad biológica, que se conoce como la región medial de la pro-ADM (MR-pro-ADM) (49) y es la que se cuantifica en plasma; Se describe en la Figura 5.

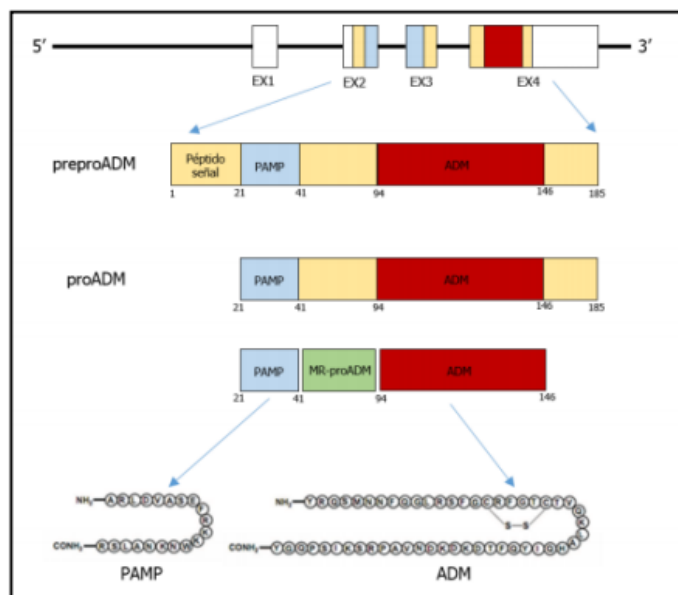


Figura 5. Fracciones de ADM. Imagen adaptada de Hinson y cols. (50).

En contraste con lo que se pensaba inicialmente, el gen de la ADM se localiza en numerosos tejidos como: el pulmonar, renal, cardíaco, adiposo y neuronal. La síntesis de esta molécula está estimulada por la presencia de citoquinas inflamatorias, toxinas bacterianas, hormonas y factores de crecimiento (51).

El mecanismo de acción de la ADM consiste en su unión al receptor de membrana del tejido correspondiente, activando una cascada de segundos mensajeros.

Ya que se trata de un marcador de amplia distribución tisular, sus niveles aumentan en numerosos procesos patológicos, como alteraciones cardíacas (infartos, enfermedades cerebrovasculares, hipertensión), pulmonares (enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma), renales (insuficiencia renal, glomerulonefritis) y tumorales, entre otros (50). Pero también se eleva en procesos infecciosos independientemente de la etiología de origen (bacteriana, viral o fúngica), siendo en dichos procesos en los que se han descrito niveles más altos de ADM.

Sin embargo, su semivida (unos 22 minutos) (52), y los métodos disponibles para su medición (técnicas de radioinmunoensayo), limitan su posible utilidad como biomarcador en un laboratorio de urgencias (53).

Años después se ha identificado la MR-pro-ADM, que es la fracción medial del precursor de la ADM, que no tiene función biológica conocida, pero se excreta en relación 1/1 con la ADM, lo que, junto con su mayor

estabilidad en suero, hace más útil esta fracción para su uso en la práctica clínica.

En cuanto a su utilización como biomarcador de sepsis y predictor de mortalidad causada por ella, hay estudios con conclusiones divergentes (54) (55)(56). Hay autores que han descrito una buena correlación entre los niveles de Pro-ADM al ingreso de los pacientes sépticos y la mortalidad asociada (55)(54). Sin embargo, otros concluyen que a pesar de mostrar rendimientos adecuados no mejoran el que alcanzan las escalas de gravedad y disfunción orgánica aunque los resultados no son malos, no mejoran ni las escalas de gravedad ni el rendimiento de marcadores que ya se emplean, como por ejemplo la PCT, desaconsejando así su uso en la práctica clínica.

La medida de pro-ADM presenta una excelente correlación con la gravedad de la enfermedad, con el riesgo de desarrollar complicaciones adversas y con la mortalidad a corto y medio plazo por infecciones en el tracto respiratorio inferior, incluyendo una de las causas principales de consulta en los SUH, la neumonía adquirida en la comunidad (NAC), especialmente cuando se combina con escalas de evaluación del riesgo, como el índice de gravedad de neumonía (PSI) y CURB-65 para la NAC (57)(58).

Más recientemente la medida al ingreso y seriada de MR-proADM ha demostrado su utilidad en el paciente crítico con SG y SS para el diagnóstico de sepsis y como predictor de mortalidad en pacientes con sepsis grave, mejorando incluso el rendimiento de la PCT (59) (60).

2.1.3.1.3. S-TREM 1 (Soluble-Triggering receptor expressed on myeloid cells 1)

Se trata de unos receptores que pertenecen a la familia de las gammaglobulinas. Se localizan en la membrana celular de neutrófilos y monocitos maduros y su expresión se induce intensamente en respuesta a una infección bacteriana o fúngica (61). Su activación interviene en la cascada de acontecimientos que caracterizan al SRIS.

Lo que se mide es la fracción soluble s-TREM 1 (62), que ha sido evaluada en numerosos estudios como posible biomarcador en el diagnóstico de los procesos infecciosos y sépticos (63).

Diferentes estudios realizados muestran diferentes resultados acerca de su valor pronóstico según las concentraciones iniciales de dicho marcador, aunque todos coinciden en su valor diagnóstico (64)(65)(66).

No obstante también se ha visto elevado en patologías no infecciosas como las vasculitis, gastritis, pancreatitis y metástasis de tumores sólidos (27).

También puede ser medido en líquidos biológicos como los lavados broncoalveolares, líquido cefalorraquídeo... (67).

2.1.3.1.4. suPAR (soluble urokinase-type plasminogen activator receptor)

Es un receptor integral de membrana con una estructura secundaria, formada por 3 alfa hélices y 17 beta láminas anti paralelas, formando 3 dominios homólogos, DI, DII y DIII (68)

El suPAR es la forma soluble del uPAR, que es el receptor activador del plasminógeno de tipo uroquinasa. Se trata de un receptor que se expresa en varios tipos de células incluyendo neutrófilos, linfocitos, monocitos/macrófagos, células endoteliales y tumorales. Tras la liberación de la membrana puede encontrarse en el plasma o en otros fluidos biológicos (69).

Su activación conlleva diversas funciones inmunológicas, que incluyen la adhesión celular, migración, quimiotaxis, proteólisis, activación inmune, remodelación del tejido, invasión y transducción de señales (70).

La concentración de suPAR se correlaciona positivamente con el nivel de activación del sistema inmune, sin embargo, se ha visto que durante las infecciones bacterianas, en donde hay una estimulación leucocitaria por parte de la infección, sí que se elevan los

niveles de suPAR, pero estas elevaciones no son tan significativas como las de la PCT o PCR, lo que lleva a pensar, que la liberación de este marcador no está tan fuertemente inducida por las endotoxinas bacterianas, como ocurre con la PCT y la PCR (71).

Hay numerosos estudios, que al igual que ocurre con el s-TREM 1, muestran diferentes resultados, contradictorios en cuanto a su utilidad diagnóstica y pronóstica (72).

Entre los nuevos biomarcadores emergentes se encuentran la PSP (Pancreatic Stone Protein) y el sCD25 (CD25 soluble). Son marcadores biológicos de nueva aparición, que en estudios realizados en los últimos años han demostrado su utilidad en el diagnóstico y pronóstico de la sepsis en el contexto de los Cuidados Intensivos (73)(74),(75),(76). Sin embargo, el comportamiento de los biomarcadores varía en función del contexto en el que estos son utilizados (77).

2.1.3.1.5. Pancreatic Stone Protein (PSP)

También es conocida como Proteína Regeneradora 1-alfa (PSP/reg) o litostatina. Se trata de un polipéptido de 16kDa, que pertenece a la familia de las proteínas de unión a la lecitina (78) y es secretado por las células acinares pancreáticas y las células Paneth intestinales en respuesta al estímulo de citocinas (79). Aunque su función exacta no está aún definida (80), parece tener funciones protectoras mediante la promoción de las respuestas proliferativas celulares durante los procesos de regeneración de las células beta y la reparación epitelial (81) interviniendo también como inhibidor de la precipitación del carbonato cálcico en el jugo pancreático (82), evitando así los cálculos a este nivel.

Se ha visto que aumenta en los casos de pancreatitis aguda y crónica, insuficiencia renal crónica, procesos gastrointestinales malignos (83), y también en aquellos procesos patológicos traumáticos que desarrollan sepsis (84), participando de esta manera en la predicción de la misma y de la asociada a fallo orgánico (85).

2.1.3.1.6. CD25 soluble (sCD25)

El sCD25 se sabe que se genera como resultado de la escisión proteolítica a partir de las células T activadas. CD25 es la cadena alfa del receptor de IL-2, y el sCD25 es una parte de esta molécula, pero más estable, con mayor vida media y por lo tanto más recomendable para su cuantificación (Figura 6)

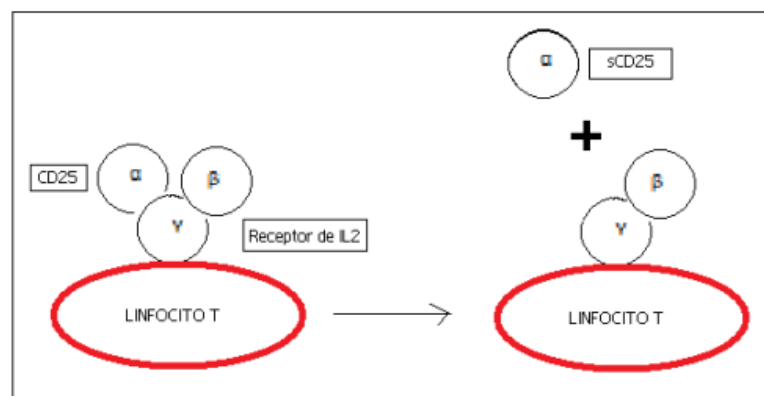


Figura 6. Proceso de escisión del sCD25.

Se expresa constitutivamente en las células T reguladoras, y también sobre las células T efectoras después de su activación, pudiendo reflejar el desarrollo de una respuesta regulatoria compensatoria (86). Se ha utilizado ampliamente como biomarcador que refleja las enfermedades inflamatorias y tumores caracterizados por la expansión de las células T (87), pero aún se desconoce si estos niveles aumentados desempeñan un papel directo en estas patologías (88).

Por otro lado, se ha visto que este marcador está presente en procesos infecciosos de carácter séptico (89).

3. CONCLUSIONES

Existe una amplia literatura sobre los biomarcadores empleados en el diagnóstico y manejo de la sepsis, sin embargo, ninguno de ellos tiene una sensibilidad y especificidad suficientemente adecuada para ser empleado en la práctica clínica como gold estándar. Los biomarcadores más utilizados a nivel clínico siguen siendo la PCR y la PCT, pero estos también presentan limitaciones a la hora de diagnosticar pacientes con infección.

Dada la complejidad de la patología infecciosa, podría decirse que una combinación de varios biomarcadores mejoraría el diagnóstico de estos pacientes, pero se requieren más estudios para dicha evaluación.

4. REFERENCIAS

1. Gutiérrez Macías A, Martínez Ortiz de Zárate M. Infecciones en urgencias. Nuevos retos para el siglo XXI. *Emergencias*. 2000;12:77-8.
2. Zárate MMO De, Castillo JG Del, Jiménez AJ, Salmerón PP, Roca FL, Tey JMG, et al. Estudio INFURG-SEME: epidemiología de las infecciones atendidas en los servicios de urgencias hospitalarios y evolución durante la última década. *Emergencias* 2013; 25: 368-378. 2013;25(5):368-78.
3. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D,

Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012.

4. BOE. Real decreto 1662/2000, de 29 de septiembre, sobre productos sanitarios para diagnóstico "in vitro." Boletín Of del Estado. 2009;núm. 268.; 109761-75.
5. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. 2010; *Crit Care* 2010; 14(1):R15
6. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69:89-95.
7. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation*. 2007;115(8):949-52.
8. Julián-Jiménez A. Biomarcadores de infección en urgencias: ¿cuáles pueden ser útiles? *Emergencias*. 2012;24:343-5.
9. González-Castillo J, Candel FJ, Julián-Jiménez A. Antibióticos y el factor tiempo en la infección en urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(3):173-80.
10. Letham K, Gray A. El objetivo de las 4 horas (4-hour target) en los servicios de urgencias del National Health Service: un comentario crítico. *Emergencias Rev la Soc Española Med Urgencias y Emergencias*. 2012; 24:69-72.
11. Tudela P, Prat C, Lacoma A, Módol JM, Domínguez J, Giménez M, et al. Biomarcadores para la predicción en urgencias de infección bacteriana, bacteriemia y gravedad. *Emergencias*. 2012;24(5):348-56.
12. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *BMJ*. 2016; 23:353-73.
13. Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med*. 2013; 369(9):840-51.
14. Tupchong K, Koyfman A, Foran M, Levy MM, al. et,

- Angus DC, et al. Sepsis, severe sepsis, and septic shock: A review of the literature. *African J. Emerg. Med.* 2015; 5:127–35.
15. Marshall JC, Vincent JL, Fink MP, Cook DJ, Rubenfeld G, Foster D, et al. Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25–26, 2000. *Crit. Care Med.* 2003; 31:1560–7.
16. Pierrakos C, Vincent J-L. Sepsis biomarkers: a review. *Crit Care.* 2010;14(1):2–18.
17. Henríquez-Camacho C, Losa J. Biomarkers for sepsis. *Biomed. Res. Int.* 2014;2014:e547818 6 páginas.
18. Abbas N, Bednar I, Mix E, Marie S, Paterson D, Ljungberg A, et al. Up-regulation of the inflammatory cytokines IFN-gamma and IL-12 and down-regulation of IL-4 in cerebral cortex regions of APP(SWE) transgenic mice. *J Neuroimmunol.* 2002; 126:50–7.
19. Jamilou Y, Bourdonnay E, Gerfaud-Valentin M, Py BF, Lefevre L, Barba T, et al. Interleukin-1, inflammasome and autoinflammatory diseases. *Rev. Med. Interne.* 2016; 16:30472–6
20. Guzmán B, Correa D, Caballase E, Calderón C. Citocinas y otras moléculas involucradas en sepsis y en pacientes con sepsis y complicaciones de neutropenia. *Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica.* 2004; 13(1):15–23.
21. Damas P, Canivet JL, de Groote D, Vrindts Y, Albert A, Franchimont P, et al. Sepsis and serum cytokine concentrations. *Crit. Care Med.* 1997; 25:405–12.
22. Rintala E, Pulkki K, Mertsola J, Nevalainen T, Nikoskelainen J. Endotoxin, interleukin-6 and phospholipase-A2 as markers of sepsis in patients with hematological malignancies. *Scand. J. Infect. Dis.* 1995; 27: 39–43.
23. Barriere SL, Lowry SF. An overview of mortality risk prediction in sepsis. *Crit. Care Med.* 1995; 23:376–93.
24. Cernada M, Roqués V, Vento M. Interleuquina-6 y diagnóstico de sepsis neonatal: algunas matizaciones. *Anales de Pediatría.* 2010;73(2):104–105.
25. Khialani AD, Espinosa MR. Proteína C reactiva y enfermedad cardiovascular. *Ed Cont Lab Clin.* 13:59–75.
26. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure.* 1999;7(2):169–77.
27. Colmenero AM, Pablo LR De, Nieto P, Martín S, Sierra D, Mateos LS, et al. Apuntes de Ciencia MARCADORES DE SEPSIS: SITUACIÓN ACTUAL. 2014;1–13.
28. Julián-Jiménez A, Candel-González FJ, González Del Castillo J. Utilidad de los biomarcadores de inflamación e infección en los servicios de urgencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(3) 177–90.
29. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *J. Emerg. Med.* 1999; 17:1019–25.
30. GP C. Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. *Crit Care Med.* 2004;8(4):234–42.
31. Rey Galán C. Biomarcadores de infección bacteriana grave: ¿ayudan en la práctica clínica? *An Pediatría.* 2016; 84: 247–8.
32. Salinas La Casta M, López Garrigós M, Uris Selles J, Leiva Salinas C. Variabilidad en la oferta y en la solicitud de determinaciones de laboratorio en pacientes de servicios de urgencias hospitalarios. *Emergencias Rev. Soc. Española Med. Urgencias y Emergencias.* 2014; 26: 450–8.
33. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet.* 1993; 341: 515–8.
34. Domínguez-Comesaña E, López-Gómez V, Estevez-Fernández SM, Mariño Padín E, Ballinas-Miranda J, Carrera-Dacosta E, et al. Procalcitonin and C-reactive protein as early indicators of postoperative intra-abdominal infection after surgery for gastrointestinal cancer. *Cirugía española.* 2014;92(4):240–6.
35. Meisner, M, Tschakowsky, K, Schmidt J et al. Procalcitonin (PCT)—Indications for a new diagnostic parameter of severe bacterial infection and sepsis in transplantation, immunosuppression and cardiac assist devices. *Cardiovasc. Eng.* 1996;1:67.
36. Brunkhorst FM, Forycki ZF, Beier W et al. Procalcitonin immunoreactivity in severe human shock. *Int Care Med.* 1995;21(Suppl 1):12.
37. Hedlund J, Hansson LO. Procalcitonin and C-reactive protein levels in community-acquired pneumonia: Correlation with etiology and prognosis. *Infection.* 2000;28(2):68–73.
38. Ma J, Wang S, Chen D, Duan J, Li C, Li G. The prognostic value of serum procalcitonin on severity of illness in non-sepsis critically ill patients. 2016; 28:688–93.
39. Linscheid P, Seboek D, Nylén ES, Langer I, Schlatter M, Becker KL, et al. In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology.* 2003; 144: 5578–84.
40. Prat Aymerich C, Domínguez Benítez J. Procalcitonina y marcadores de infección. *Ed. Cont. Lab. Clin.* 2004;7:38–43.
41. Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin in bacterial infections—hype, hope, more or less? *Swiss Med. Wkly.* 2005; 135: 451–60.
42. Masahira K, Gaku T, Naoya M, Tomohiro K. Serum levels of soluble CD14 subtype reflect the APACHE II and SOFA Scores. *Med Postgraduates.* 2010;48(1):46–50.
43. Liu B, Chen Y-X, Yin Q, Zhao Y-Z, Li C-S.

- Diagnostic value and prognostic evaluation of Presepsin for sepsis in an emergency department. *Crit Care*. 2013; 17: R244.
44. Miyata M, Sato N, Takahashi. The utility of the soluble CD14 subtype for diagnosis of sepsis, the examination of the simple diagnostic kit. *J Iwate med Assoc*. 2007;59:325–31.
45. García de Guadiana L, Esteban P, Viqueira M, Jiménez R, Hernando A, Ortín A et al. Diagnostic accuracy of presepsin (soluble CD14 subtype) for prediction of bacteremia in patients with systemic inflammatory response syndrome in the Emergency Department. *Clin Biochem*. 2014; 47: 505–8.
46. Kweon OJ, Choi JH, Park SK, Park AJ. Usefulness of presepsin (sCD14 subtype) measurements as a new marker for the diagnosis and prediction of disease severity of sepsis in the Korean population. *J. Crit. Care*. 2014; 29:965–70.
47. Sato M, Takahashi G, Shibata S, Onodera M, Suzuki Y, Inoue Y, et al. Clinical Performance of a New Soluble CD14-Subtype Immunochromatographic Test for Whole Blood Compared with Chemiluminescent Enzyme Immunoassay: Use of Quantitative Soluble CD14-Subtype Immunochromatographic Tests for the Diagnosis of Sepsis. *PLoS One*. 2015; 10: e0143971.
48. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto K, Ichiki Y, Nakamura S, et al. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;192:553–60.
49. Ishimitsu T, Kojima M, Kangawa K, Hino J, Matsuoka H, et al. Genomic structure of human adrenomedullin gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;203:631–9.
50. Hinson JP, Kapa S, Smith DM. Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev*. 2000;21:138–67.
51. Cases A, Mora-Macia J. Adrenomedullin: a new vasoactive peptide. *Nefrologia*. 2001;21:16–25.
52. Ornan DA, Chaudry IH, Wang P. Saturation of adrenomedullin receptors plays an important role in reducing pulmonary clearance of adrenomedullin during the late stage of sepsis. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1586:299–306.
53. Lewis LK, Smith MW, Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG. Adrenomedullin(1-52) measured in human plasma by radioimmunoassay: plasma concentration, adsorption, and storage. *Clin Chem*. 1998;44:571–7.
54. Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Struck J, Harbarth S, Bergmann A, Müller B. Mid-regional pro-adrenomedullin as a prognostic marker in sepsis: an observational study. *Crit Care*. 2005;9(6):816–24.
55. Guignat C, Voirin N, Venet F, Poitevin F, Malcus C, Bohé J, et al. Assessment of pro-vasopressin and pro-adrenomedullin as predictors of 28-day mortality in septic shock patients. *Intensive Care Med*. 2009; 35:1859–67.
56. Suberviola B, Castellanos-Ortega A, Ruiz Ruiz A, Lopez-Hoyos M, Santibañez M. Hospital mortality prognostication in sepsis using the new biomarkers suPAR and proADM in a single determination on ICU admission. *Intensive Care Med*. 2013; 39: 1945–52.
57. Cavallazzi R, El-Kersh K, Abu-Atherah E, Singh S, Loke YK, Wiemken T, et al. Midregional proadrenomedullin for prognosis in community-acquired pneumonia: A systematic review. *Respir. Med*. 2014; 108: 1569–80.
58. España PP, Capelastegui A, Mar C, Bilbao A, Quintana JM, Díez R, et al. Performance of pro-adrenomedullin for identifying adverse outcomes in community-acquired pneumonia. *J. Infect*. 2015; 70: 457–66.
59. Andaluz-Ojeda D, Cicuéndez R, Calvo D, Largo E, Nogales L, Muñoz MF, et al. Sustained value of proadrenomedullin as mortality predictor in severe sepsis. *J. Infect*. 2015; 71: 136–9.
60. Valenzuela Sanchez F, Valenzuela Mendez B, Bohollo de Austria R, Rodríguez Gutiérrez J, Jaen Franco M, González García M, et al. Diagnostic and prognostic usefulness of Mid-Regional Pro-Aadrenomedullin levels in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med. Exp*. 2015; 3: A306.
61. Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature*. 2001; 410: 1103–7.
62. Gibot S, Massin F. Soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells 1: an anti-inflammatory mediator? *Intensive Care Med*. 2006; 32: 185–7.
63. Jiyong J, Tiancha H, Wei C, Huahao S. Diagnostic value of the soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in bacterial infection: a meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2009;35(4):587–95.
64. Latour-Pérez J, Alcalá -López A, García-García MA, Sánchez-Hernández JF, Abad-Terrado C, Viedma-Contreras JA, et al. Valor pronóstico de los niveles plasmáticos de sTREM-1 en pacientes con sepsis: Un estudio de cohortes. *Med Intensiva*. 2010;34(4):231–6.
65. Gibot S, Cravoisy A, Kolopp-Sarda M-N, Béné M-C, Faure G, Bollaert P-E, et al. Time-course of sTREM (soluble triggering receptor expressed on myeloid cells)-1, procalcitonin, and C-reactive protein plasma concentrations during sepsis. *Crit. Care Med*. 2005; 33:792–6.
66. Phua J, Koay ESC, Zhang D, Lee KH. How well do serum sTREM-1 measurements prognosticate in septic shock? *Anaesth. Intensive Care*. 2008; 36:654–8.
67. Valor diagnóstico de la inmunoglobulina sTREM-1 en la neumonía de los pacientes ventilados mecánicamente. *Med Intensiva*. 2004; 28: 386–9.
68. Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J. suPAR: the molecular crystal ball. *Dis Markers*. 2009; 27: 157–72.

69. Ploug M, Rønne E, Behrendt N, Jensen AL, Blasi F, Danø K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 1926–33.
70. Eugen-Olsen J. suPAR - a future risk marker in bacteremia. *J Intern Med.* 2011;270(1):29–31.
71. de Kruijff MD, Lemaire LC, Giebelen IA, Struck J, Morgenthaler NG, Papassotiropoulos J, et al. The influence of corticosteroids on the release of novel biomarkers in human endotoxemia. *Intensive Care Med.* 2008; 34: 518–22.
72. Gustafsson A, Ljunggren L, Bodelsson M, Berkestedt I. The prognostic value of suPAR compared to other inflammatory markers in patients with severe sepsis. *Biomark Insights.* 2012; 7: 39–44.
73. Schlapbach LJ, Graf R, Woerner A, Fontana M, Zimmermann-Baer U, Glauser D, et al. Pancreatic stone protein as a novel marker for neonatal sepsis. *Intensive Care Med.* 2013;39(4):754–63.
74. Yu D, Kim J, Park C, Park J. Serial Changes of CD4 + CD25 + FoxP3 + Regulatory T Cell in Canine Model of Sepsis Induced by Endotoxin. *J Vet Med Sci.* 2014;25:4–7.
75. Matera G, Puccio R, Giancotti A, Quirino A, Pulicari M, Zicca E, et al. Impact of interleukin-10, soluble CD25 and interferon- γ on the prognosis and early diagnosis of bacteremic systemic inflammatory response syndrome: a prospective observational study. *Crit Care.* 2013; 17(2): R64.
76. Keel M, Härter L, Reding T, Sun L-K, Hersberger M, Seifert B, et al. Pancreatic stone protein is highly increased during posttraumatic sepsis and activates neutrophil granulocytes. *Crit. Care Med.* 2009; 37(5): 1642–8.
77. Schuetz P, Mueller B. Procalcitonin in critically ill patients: time to change guidelines and antibiotic use in practice. *Lancet Infect. Dis.* 2016; 16(7): 758–60.
78. Rass AA, Talat MA, Arafat MA, El-Saadany HF, Amin EK, Abdelsalam MM, et al. The Role of Pancreatic Stone Protein in Diagnosis of Early Onset Neonatal Sepsis. *Biomed. Res. Int.* 2016; 1035856.
79. Keim V, Iovanna JL, Dagorn JC. The acute phase reaction of the exocrine pancreas. Gene expression and synthesis of pancreatitis-associated proteins. *Digestion.* 1994; 55(2): 65–72.
80. Llewellyn MJ, Berger M, Gregory M, Ramaiah R, Taylor AL, Curdt I, et al. Sepsis biomarkers in unselected patients on admission to intensive or high-dependency care. *Crit. Care.* 2013; 17:R60.
81. Graf R, Schiesser M, Reding T, Appenzeller P, Sun L-K, Fortunato F, et al. Exocrine meets endocrine: pancreatic stone protein and regenerating protein—two sides of the same coin. *J. Surg. Res.* 2006; 133(2): 113–20.
82. Jin CX, Hayakawa T, Ko SBH, Ishiguro H, Kitagawa M. Pancreatic Stone Protein/Regenerating Protein Family in Pancreatic and Gastrointestinal Diseases. *Intern Med.* 2011;50:1507–16.
83. Motoo Y, Satomura Y, Mouri I, Mouri H, Ohtsubo K, Sakai J, et al. Serum levels of pancreatitis-associated protein in digestive diseases with special reference to gastrointestinal cancers. *Dig. Dis. Sci.* 1999; 44(6): 1142–7.
84. Keel M, Härter L, Reding T, Sun L-K, Hersberger M, Seifert B, et al. Pancreatic stone protein is highly increased during posttraumatic sepsis and activates neutrophil granulocytes*. *Crit. Care Med.* 2009; 37(5): 1642–8.
85. Que YA, Delodder F, Guessous I, Graf R, Bain M, Calandra T, et al. Pancreatic stone protein as an early biomarker predicting mortality in a prospective cohort of patients with sepsis requiring ICU management. *Crit. Care.* 2012; 16(4): R114.
86. Taylor AL, Llewellyn MJ. Superantigen-Induced Proliferation of Human CD4+CD25- T Cells Is Followed by a Switch to a Functional Regulatory Phenotype. *J. Immunol.* 2010; 185(11): 6591–8.
87. Rubin LA, Nelson DL. The soluble interleukin-2 receptor: biology, function, and clinical application. *Ann. Intern. Med.* 1990; 113(8): 619–27.
88. Russell SE, Moore AC, Fallon PG, Walsh PT. Soluble IL-2R α (sCD25) exacerbates autoimmunity and enhances the development of Th17 responses in mice. *PLoS One.* 2012; 7(10): e47748.
89. Saito K, Wagatsuma T, Toyama H, Ejima Y, Hoshi K, Shibusawa M, et al. Sepsis is characterized by the increases in percentages of circulating D4+CD25+ regulatory T cells and plasma levels of soluble CD25. *Tohoku J. Exp. Med.* 2008; 216(1): 61–8.

